

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968

N° 4 u

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Université)

présentée et soutenue publiquement le 22 Mai 1968

par

Marie-Paule PLAZONNET - RENARD

Pharmacien

Ancien Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Clermont-Ferrand

Assistant à la Faculté - Assistant des Hôpitaux

CONTRIBUTION CRITIQUE ET EXPERIMENTALE

A L'ETUDE DES VARIATIONS

DE QUELQUES ACTIVITES ENZYMATIQUES DE L'OVAIRE DE RATTE PUBERE

A L'ETAT NORMAL

ET SOUS L'INFLUENCE D'UNE MEDICATION OESTROGENIQUE OU PROGESTATIVE.

Président : M. DASTUGUE, Professeur

M. TRONCHE , Professeur

Membres du Jury : M. TURCHINI , Professeur

M. BASTIDE , Professeur

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968

N°

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Université)

présentée et soutenue publiquement le 22 Mai 1968

par

Marie-Paule PLAZONNET - RENARD

Pharmacien

Ancien Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Clermont-Ferrand

Assistant à la Faculté - Assistant des Hôpitaux

CONTRIBUTION CRITIQUE ET EXPERIMENTALE

A L'ETUDE DES VARIATIONS

DE QUELQUES ACTIVITES ENZYMATIQUES DE L'OVAIRE DE RATTE PUBERE

A L'ETAT NORMAL

ET SOUS L'INFLUENCE D'UNE MEDICATION OESTROGENIQUE OU PROGESTATIVE.

Président : M. DASTUGUE, Professeur

M. TRONCHE, Professeur

Membres du Jury : M. TURCHINI, Professeur

M. BASTIDE, Professeur

UNIVERSITE
de
CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : G. MEYNIEL,
Assesseur : M. COULET

Doyen Honoraire : M. CUVELIER Directeur Honoraire : M. MERLE.

Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET, MM. BUREAU,
GAUTHIER, POMMÉ.

I - Professeurs Titulaires

MM. BARRIER	- Clinique Chirurgicale A
BASTIDE	- Chimie biologique et Pharmacodynamie
BAUDON	- Clinique obstétricale
BERGER	- Chimie analytique
BERGERON	- Pathologie médicale
COULET	- Botanique et microbiologie
CUVELIER	- Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	- Biochimie médicale
DAUPHIN	- Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
DELAGE	- Anatomie Pathologique
FEBVRE	- Pharmacie Galénique
GRAS	- Clinique Médicale
JACQUEMET	- Technique chirurgicale
JALLUT	- Séméiologie médicale
LATAIX	- Pathologie chirurgicale
MERCIER	- Anatomie
MEYNIEL	- Biophysique médicale
MOLINA	- Clinique Pneumo-ptisiologique
PETIT	- Médecine légale et Médecine sociale
POROT	- Clinique neurologique et psychiatrique
POURRAT	- Matière médicale
Mele RAMPON	- Thérapeutique
MM. ROUHER	- Clinique ophtalmologique
TERRASSE	- Clinique médicale B
THIEBLot	- Physiologie
THOMAS	- Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
TRONCHE	- Pharmacie chimique
TURNCHINI	- Histologie et Embryologie
VAURS	- Bactériologie et Hygiène
WILLEMIN-CLOG	- Clinique Médicale infantile

II - Professeur Titulaire à titre personnel.

M. CHAMPEIX	- Médecine Légale et Médecine du Travail
M. VIALLET	- Electro-Radiologie.

III - Professeurs sans Chaire.

MM. ALFIERI	- Biophysique Médicale
CLUZEL	- Bactériologie
DUCHENE-MARULLAZ	- Physiologie
GERMAIN	- Clinique Chirurgicale B
MENUT	- Pédiatrie et Puériculture.

IV - Maîtres de Conférences Agrégés.

M. BOSSY	- Anatomie
Mlle CHATONIER	- Chimie minérale et Minéralogie
Mme GAILLARD	- Physique Pharmaceutique
Mme MOINADE	- Médecine générale et Thérapeutique
M. PIGNIDE	- Médecine générale
Mme POURRAT	- Botanique
M. VENRIES de LAGUILLAUMIE	- Anatomie Pathologique

V - Agrégés

MM. FOURRIER	- Orhtopédie
HOUDARD	- Chirurgie Générale
JANNY	- Neuro-chirurgie
RENARD	- Pneumo-phthisiologie
TOURNILHAC	- Neurologie et Psychiatrie

VI - Délégués dans les fonctions de Maitres de Conférences.

MM. JARREAU	- Matière médicale
MALET	- Histologie et embryologie
MARCHEIX	- Médecine générale et Thérapeutique
PLAGNE	- Cancérologie

Attaché Principal : M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation. (Délibération en date du 6 Juin 1956).

-:-:-:-:-

A MON MARI

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur DASTUGUE

Professeur de Biochimie Médicale,
Docteur en Médecine et en Pharmacie,
Docteur ès-Sciences,
Lauréat de l'Académie de Médecine
et de l'Académie des Sciences,
Chevalier de la Légion d'Honneur,
Commandeur de la Santé Publique,
Officier des Palmes Académiques.

Qui nous a fait l'honneur de nous accueillir dans
son Laboratoire, qui a sans cesse guidé nos recherches tout en nous prodiguant ses conseils éclairés.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre
respectueuse gratitude et le témoignage de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur TRONCHE

Professeur de Pharmacie Chimique,
Diplômé d'E.S. d'Ophtalmologie
Chevalier des Palmes Académiques.

Monsieur le Professeur TURCHINI

Professeur d'Histologie et d'Embryologie,
Docteur és-Sciences.

Monsieur le Professeur BASTIDE

Professeur de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie,
Pharmacien Chef des Hôpitaux,
Chevalier des Palmes Académiques.

Qui nous ont fait l'honneur de juger cette thèse.
En témoignage de notre respectueuse gratitude.

INTRODUCTION

C'est un lieu commun d'affirmer que l'ovaire est au centre de l'actualité biologique ; en effet de nombreux travaux ont été consacrés à cet organe, les plus récents ont été inspirés par l'introduction dans l'arsenal pharmacodynamique de médicaments destinés à bloquer l'ovulation dans un but thérapeutique ou démographique. L'ovaire ayant un métabolisme très actif, son équipement enzymatique est important ; il est donc logique de chercher à apprécier l'activité de ces différentes enzymes après administration d'antiovulatoires.

Cette thérapeutique fait appel à des substances dérivées des deux hormones ovariennes : l'œstradiol et la progestérone. En pratique ces produits se trouvent souvent associés ; cependant afin d'apporter une contribution à l'étude du mécanisme d'action de chacune nous avons choisi pour mesurer les variations éventuelles des activités enzymatiques ovariennes un dérivé des œstrogènes parmi les plus couramment employés : l'éthinyl œstradiol et, dans le groupe des progestatifs, notre choix s'est fixé sur le lynestrénol dont l'action progestative est pratiquement pure puisque son pouvoir œstrogénique n'est que de 1 à 2 p. cent de celui de l'éthinyl-œstradiol. Nous avons administré ces produits per os, puisque cette voie est celle qui est la plus couramment utilisée en thérapeutique.

Notre exposé se trouve divisé en deux parties suivies de conclusions générales.

Comme nous ne pouvons résumer en quelques lignes tout ce qui se rapporte à l'anatomie et à la physiopathologie de l'ovaire nous avons jugé préférable de renvoyer le lecteur à l'ouvrage de

Zuckerman (472) qui analyse tout ce qui concerne cette glande dans deux volumes de quelque six cent pages chacun.

La première partie de notre exposé est consacrée aux recherches bibliographiques. Elle commence par une analyse des enzymes découvertes jusqu'à présent dans l'ovaire quelle que soit l'espèce animale considérée. Un second chapitre montre leur place dans les différents métabolismes : glucidique, lipidique, protidique. Cependant l'étude de leur action dans la biogénèse et le devenir des hormones ovariennes a été plus développée. Nous sommes restée dans un domaine strictement biochimique mais bien des résultats demanderaient d'être interprétés à la lumière des corrélations hormonales qui sont du domaine de l'endocrinologiste. Le troisième chapitre traite des variations physiologiques, en effet, les systèmes ovariens évoluent de façon cyclique présentant des phases de sécrétion maximale et minimale, de durée variable selon les espèces ; toute gestation interrompant le cycle normal et imposant à l'ovaire de nouvelles sécrétions qui lui sont particulières tant par leur nature que par leur durée. Dans le quatrième et dernier chapitre, nous étudions les variations que subissent les enzymes ovariennes au cours de différents états pathologiques ou lors de l'administration d'agents pharmacodynamiques divers.

Dans la deuxième partie consacrée à l'exposé de notre travail expérimental, après un chapitre de généralités traitant des substances expérimentées, du traitement des animaux, de l'obtention des préparations enzymatiques, du mode d'expression des résultats, des effets secondaires provoqués par le traitement, ainsi que des valeurs de l'azote total, de l'A.D.N. et de l'A.R.N., nous avons rapporté les variations obtenues lors de dosages enzymatiques effectués sur les ovaires de Rattes témoins et d'animaux traités par les substances pharmacologiques choisies. Notre étude a porté sur les activités lactate déhydrogénasique, glucose-6-phosphate déhydrogénasique, 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductasique, lipasiques, aliestérasiques, phosphatasiques acide et alcaline, β -glucuronidasique et leucine aminopeptidasique. Nous avons donc exploré les différents métabolismes ovariens en portant particulièrement notre attention sur celui des stéroïdes.

Enfin, nous avons résumé les conclusions auxquelles nous avons abouti.

Nous tenons à exprimer nos remerciements aux laboratoires Endopancrine qui ont eu l'extrême obligeance de nous confier le progestatif expérimenté et de nous communiquer des documents

scientifiques indispensables à l'élaboration de notre travail.

Nos remerciements iront aussi à Messieurs les Professeurs Grangaud et Nicol de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Rennes ; avec une grande amabilité et une parfaite compétence, ils nous ont accueilli dans leur laboratoire pour nous permettre de parfaire notre technique expérimentale.

Nous ne saurions terminer cette introduction sans exprimer notre vive gratitude à notre Maître le Professeur Dastugue pour l'enseignement qu'il a bien voulu nous prodiguer tant à la Pharmacie du Centre Hospitalier et Universitaire qu'au Laboratoire de Biochimie Médicale ; il a inspiré le sujet de cette thèse et en a guidé la réalisation de ses conseils éclairés.

Que notre Maître, Monsieur le Professeur Bastide dont l'amabilité et les profondes connaissances scientifiques nous ont été précieuses tant pour l'élaboration de ce travail que durant nos années d'Internat, trouve ici l'expression de nos plus vifs remerciements.

Nos remerciements iront aussi à Monsieur le Professeur Turchini qui a bien voulu compléter notre travail par une étude histologique.

Nous assurons Monsieur le Professeur Tronche, de notre respectueuse gratitude pour avoir bien voulu faire partie de notre jury de thèse.

Nous tenons également à remercier Monsieur Archimbaud Conservateur à la Bibliothèque de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie, qui a facilité nos recherches bibliographiques ainsi que tous nos Maîtres de cette Faculté pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué.

PREMIERE PARTIE

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE PREMIER

EXPOSE ANALYTIQUE

Le schéma général de la classification adopté pour cet exposé est établi selon les " Recommendations of the International Union of Biochemistry on the Nomenclature and Classification of Enzymes " 1964 (148).

I - OXYDOREDUCTASES.

AGISSANT SUR LE GROUPEMENT CH-OH DES DONNEURS (I.I).

- Avec NAD ou NADP comme accepteur (I.I.I).

Alcool déhydrogénase (I.I.I.I).

Chez la Femme, les thèques des follicules de De Graaf, le corps jaune gravidique et les cellules interstitielles ont une activité enzymatique importante ; elle est moindre dans les cellules de la granulosa et au niveau du corps jaune menstruel. [Konig 1965 (249), (250), Fergusson et coll. 1966 (155)].

Glycérol-3-phosphate déhydrogénase (I.I.I.8).

L'étude histochimique de cette enzyme dans les ovaires humains a révélé une localisation en tous points identique à celle de la précédente [Konig 1965 (249), (250), Jung et coll. 1965 (232)].

Lactate déhydrogénase (I.I.I.28).

L'activité lactate déhydrogénasique se manifeste principalement au niveau des sites de production des hormones que ce soit dans l'espèce humaine [Ikonen et coll. 1961 (215), Deane et coll. 1962 (120), Arvy 1963 (16), Scully et coll. 1964 (405),

Brandau et coll. 1964 (58), 1965 (59), König 1965 (249), (250)], chez la Ratte où Presl et coll. 1965 (352) l'ont localisée dans les mitochondries ou chez le Poisson *Scomber scombrus* [Bara 1965 (33)].

Cette enzyme fut déterminée quantitativement chez la Femme et chez le Cobaye par Lo Stumbo 1960 (271) et chez la Ratte par Renard, Bastide et Dastugue en 1966 (366).

3 - Hydroxybutyrate déhydrogénase (I.I.I.30).

Les ovaires humains sont dépourvus d'activité hydroxybutyrate déhydrogénasique [König 1965 (249), (250)] alors que les ovaires de *Vipera aspis* sont intensément réactifs [Dastugue 1968 (113)].

Malate déhydrogénase (I.I.I.40).

Le corps jaune est le siège principal de l'activité enzymatique que ce soit chez les bovidés [Savard et coll. 1963 (396)] chez la Ratte [Mc Shan et coll. 1948 (288)] ou chez la Femme [Nielson et coll. 1965 (323)].

Chez cette dernière, Brandau et coll. 1965 (59), utilisant des sels de tétrazolium, montrèrent que la thèque interne des follicules en voie de maturation, les follicules tertiaires et les cellules interstitielles du stroma sont faiblement réactifs: tandis que pour König 1965 (249), faisant appel à la technique histo-chimique de Hess et coll. 1958 (208), les ovaires humains sont dépourvus de toute activité malate déhydrogénasique.

Isocitrate déhydrogénase (I.I.I.42).

Chez la Femme, la réaction enzymatique est très nette au niveau de l'ovule, de la thèque interne, de la granulosa lutéale, des cellules du hile et des cellules enzymatiquement actives du stroma ovarien [Scully et coll. 1964 (402)], des follicules en voie de maturation et des cellules interstitielles [Brandau et coll. 1965 (59)]. Les cellules de la granulosa et du cortex ovarien [Nielson et coll. 1965 (323), König 1965 (249), (250)] sont peu réactives.

Chez les bovidés, l'isocitrate déhydrogénase se trouve principalement au niveau du corps jaune [Savard et coll. 1963 (396)].

Phosphoglucconate déhydrogénase (I.I.I.44).

Les corps jaunes gravidique et cyclique de la Femme ainsi que la région corticale ovarienne sont intensément réactifs [Nielson et coll. 1965 (324)]; il en est de même des cellules

interstitielles et thécales des follicules de De Graaf dont l'activité est nettement supérieure à celle des cellules de la granulosa [Konig 1965 (249)].

Glock et coll. 1954 (184), dans le corps jaune bovin, évaluèrent à 50 U par g de tissu, le taux de phosphogluconate déshydrogénase. Pour ces auteurs l'unité de réaction enzymatique étant la quantité d'enzyme qui réduit 0,01 μ mole de NAD par minute et à + 20° C. Dans les ovaires de Ratte, cette enzyme se rencontre en très faible quantité [Wegmann et coll. 1963 (449)].

Glucose-6-phosphate déshydrogénase (I.I.I. 49).

Que ce soit chez les bovidés [Glock et coll. 1954 (184), Savard et coll. 1963 (396), Nielson et coll. 1965 (324)] ou chez la Femme [Deane et coll. 1962 (120), Nielson et coll. 1965 (324)] le corps jaune est le siège principal de l'activité glucose-6-phosphate déshydrogénasique. Chez cette dernière, l'enzyme se rencontre aussi dans les cellules du hile [Scully et coll. 1964 (402)], les cellules interstitielles [Brandau et coll. 1965 (59), Konig 1965 (249)], les cellules de la granulosa [Taki et coll. 1967 (421)], ainsi que dans la thèque interne des follicules en voie de maturation [Brandau et coll. 1965 (59)].

Les ovaires de Ratte [Turolla 1963 (434), Wegmann et coll. 1963 (449), Renard, Bastide et Dastugue 1966 (366)] et de Poisson [Bara 1965 (33)] réagissent positivement.

3- α -hydroxystéroïde déshydrogénase (I.I.I. 50).

Pour Baillie et coll. 1966 (24), étudiant l'utilisation des 3- α -hydroxystéroïdes dans l'ovaire de Souris, cette enzyme se trouve en faible quantité.

3- β -hydroxystéroïde déshydrogénase (I.I.I. 51).

Rubin et coll. 1957 (378), Watterberg 1958 (448), ont montré qu'il existe une déshydrogénase catalysant la conversion des Δ^5 3- β -hydroxystéroïdes tels la déhydroépiandrosterone (D.H.A.) et la prégénolone en Δ^4 3-cétostéroïdes ; cette enzyme dont l'activité reste stable plusieurs jours à + 4° C, utilise préférentiellement le NAD ; elle se localise dans les microsomes [Davenport et coll. 1965 (116)], elle est inhibée par les cyano-cétones [Goldman et coll. 1966 (188)].

Axelrod et coll. 1962 (21) l'ont mise en évidence dans les ovaires humains normaux en incubant les tissus avec de la progestérone-4- 14 C et de la 5-prégénolone-4- 14 C. La 3- β -hydroxystéroïde déshydrogénase se trouve dans le corps jaune [Samuels

et coll. 1951 (389), Watterberg 1958 (448), Ikonen et coll. 1961 (215), Forleo et coll. 1964 (175), Taki et coll. 1967 (421)], principalement au niveau des cellules lutéales [Deane et coll. 1962 (120), Goldberg et coll. 1963 (187), Bontke 1964 (53), König 1965 (249)], ainsi que dans les cellules de la thèque interne des follicules sains [Ikonen et coll. 1961 (215), Deane et coll. 1962 (120), König 1965 (250)]. Goldberg et coll. 1963 (187), qui aux méthodes histochimiques avaient ajouté des méthodes chromatographiques, confirmèrent les travaux précédents. Les cellules de la granulosa des follicules atresiques donnent une réaction positive [Deane et coll. 1962 (120)] il n'en est pas de même quand il s'agit de follicules sains [König 1965 (250)]. Pour ce qui est de l'ovaire de fœtus humain, cette enzyme apparaît au début du 4e mois dans les cellules du follicule ovarien et atteint rapidement une activité maximum pendant la période de différenciation uréthro-vaginale [Goldman et coll. 1966 (189)].

Chez des Rattes de 8 à 10 jours, cette stéroïde déhydrogénase se rencontre dans les cellules interstitielles se différenciant autour des follicules en croissance [Chieffi et coll. 1964 (99), Presl et coll. 1965 (352)]. Jusqu'à la maturité sexuelle, ces cellules ainsi que celles des théques restent le siège principal de l'activité enzymatique [Deane et coll. 1961 (119), Taylor 1961 (427)]. Dans les ovaires de Rattes adultes, la granulosa des follicules atresiques et le corps jaune deviennent positifs: il faut cependant noter que, dans ce dernier, la réaction est très faible pendant les phases de développement et de régression [Levy et coll. 1959 (265), (266), Pupkin et coll. 1966 (359)]; d'autre part son augmentation est parallèle à celle du poids de l'ovaire [Rubin et coll. 1963 (376)]. Chez le Cobaye [Rubin et coll. 1963 (377)], de même que chez la Souris [Fergusson 1965 (153)], la répartition de l'enzyme est identique.

Dans les ovaires de Chatte, c'est au niveau des cellules thécales que se localise cette stéroïde déhydrogénase, tandis que chez la Brebis, la Vache et la Jument, seul le tissu lutéal est réactif; quant aux ovaires de Chienne et de Tatou, ils réagissent négativement [Rubin et coll. 1963 (377)]. Dans les ovaires de Truies pubères et impubères, les cellules de la granulosa manifestent une activité enzymatique intense [Bjersing et coll. 1964 (49), Bergman et coll. 1966 (41)].

Les ovaires de Lapine réagissent positivement [Furhman 1963 (178)] en particulier au niveau des cellules interstitielles

[Watttemberg 1958 (448)]. Narbaitz et coll. 1964 (316), ont pu démontrer une activité enzymatique dans les gonades de Poulets " Leghorn blanc " âgés de 8 jours. Botte 1963 (55), Chieffi et coll. 1965 (95), (98) précisèrent la localisation au niveau des tissus produisant des stéroïdes.

Bien que Chieffi et coll. [in Joly 1965 (222)] l'aient recherchée sans succès dans les ovaires de Grenouille, Joly 1965 (222) montra que les tissus ovariens de *Salamandra salamandra* sont positifs au niveau du corps jaune et de l'épithélium des follicules mûrs. Chez le Poisson l'activité enzymatique est constante dans les cellules des thèques [Bara 1965 (34)].

17- β -hydroxystéroïde déhydrogénase (I.I.I.51).

Bien que pour Pearson et coll. 1959 (341), seuls le foie et l'intestin grêle possèdent une activité 17- β -ol déhydrogénase, pour Breuer et coll. 1959 (62), elle s'étend à l'ovaire humain qui est capable de métaboliser in vitro 21 p. cent de la testostérone ajoutée au milieu d'incubation. Cette enzyme se trouve dans la fraction soluble d'un homogénat d'ovaires de Lapine [Davenport et coll. 1966 (116)]. La granulosa des follicules, que ce soit chez la Femme [Chieffi et coll. 1958 (98)] ou chez la Truie [Bjersing et coll. 1964 (49)] possède une activité enzymatique; il en est de même de l'épithélium ovarien du Rat nouveau-né [Chieffi et coll. 1964 (99)].

20- α -hydroxystéroïde déhydrogénase.

Cette enzyme ayant une spécificité absolue pour la configuration 20- α -hydroxy, favorise à pH 8,0 la réduction réversible de la progestérone en 20- α -hydroxyprégnène-3-one par le NADPH₂. Wilcox et coll. 1966 (461) la purifièrent par précipitation fractionnée par le sulfate d'ammonium et chromatographie sur diéthylaminoéthylcellulose. Wiest et coll. 1961 (457), Turolla et coll. 1966 (435), montrèrent sa présence dans les ovaires de Ratte surtout au niveau du stroma et des thèques [Balogh et coll. 1966 (30)] ainsi que dans le corps jaune, surtout pendant la période d'involution [Balogh 1964 (29)]. Chez la Truie, l'enzyme se situe au niveau de la granulosa [Bjersing et coll. 1964 (49)].

20- β -hydroxystéroïde déhydrogénase.

Chez la Souris, elle se trouve au niveau de la thèque interne mais la réaction de caractérisation est extrêmement faible [Baillie 1965 (23)].

Ces deux dernières enzymes sont localisées dans la fraction soluble des homogénats d'ovaire de Lapine [Davenport et coll. 1966 (116)].

Autres stéroïdes déhydrogénases.

Les ovaires de Souris renferment une très faible quantité de 16- α -hydroxystéroïde déhydrogénase ; en ce qui concerne les déhydrogénases 6- β - et 16- β -hydroxystéroïde, elles donnent une réaction intense [Baillie et coll. 1966 (24)]. Ces auteurs n'ont pu mettre en évidence de 11- α , 12- α , 21- α , 24- α -hydroxystéroïde déhydrogénases.

- Avec d'autres accepteurs (I.I.99).

Choline déhydrogénase (I.I.99.I).

Pour Konig 1965 (250), il n'y a aucune activité choline déhydrogénasique dans les ovaires de Femme.

AGISSANT SUR LE GROUPEMENT ALDEHYDE OU CETO DES DONNEURS (1.2).

- Avec NAD ou NADP comme accepteur (I.2.I).

Glycéraldéhydephosphate déhydrogénase (triosephosphate déhydrogénase) (I.2.I.9).

Dans les ovaires humains, la thèque interne des follicules en voie de maturation, les cellules interstitielles, les cellules thécales du corps jaune sont très riches en glycéraldéhydephosphate déhydrogénase [Brandau et coll. 1965 (59)], tandis que les cellules de la granulosa des follicules tertiaires ont une activité enzymatique plus faible [Konig 1965 (250)].

Chez la Ratte, Himmelhoch et coll. 1961 (209) décelèrent une légère réaction au niveau de la thèque interne du follicule mûr ; ce fait non confirmé par Wegmann et coll. 1963 (449) est peut être dû au prétraitement par l'isopentane employé par les premiers auteurs.

- Avec le lipoate comme accepteur (I.2.4).

Pyruvate déhydrogénase (I.2.4.I).

Oxoglutarate déhydrogénase (I.2.4.2).

La répartition de ces deux enzymes dans les ovaires de Ratte, suit de très près celle de la diaphorase ; Fergusson 1966 (154) les a décelées dans le tissu interstitiel, le corps jaune, les théques, l'épithélium germinatif ainsi qu'au niveau de l'ovule et de la zone vascularisée qui réagissent intensément.

AGISSANT SUR LE GROUPEMENT CH-CH DES DONNEURS (I.3).

Succinate déhydrogénase (I.3.99.I).

A l'échelle cellulaire, la répartition de cette enzyme correspond à celle des mitochondries [Damas 1964 (112), Ishida et coll. 1965 (218)].

Chez la Femme, les cellules lutéiniques du corps jaune, les cellules de la granulosa et de l'épithélium germinatif réagissent intensément [Foraker et coll. 1953 (167), 1961 (171)], de même les cellules de la thèque interne du follicule en voie de maturation [Ikonen et coll. 1961 (215)].

Chez la Lapine, les cellules du corps jaune gravidique sont fortement positives [Foraker et coll. 1952 (168), 1955 (170)] ainsi que l'interstitielle, la capsule ovarienne et la granulosa [Arvy 1960 (15)].

Pihar 1952 (345) décèle une activité succinate déhydrogénasique dans les ovaires de Ratte. Tandis que pour Meyer et coll. 1945 (296) et pour Arezzi-Boza 1964 (8) et Oki 1965 (331), le tissu lutéal est le plus réactif de tous les tissus ovariens, pour Rutenburg et coll. 1953 (383), le corps jaune présente une réaction faible et diffuse ce qui fut confirmé par Buno et coll. 1958 (79) lesquels, de plus, décelèrent une activité intense au niveau de l'interstitielle. Il en est de même de la thèque interne [Padikula 1954 (336), Arezzi-Boza 1964 (8)].

Dans l'ovaire de Souris, cette enzyme peut être décelée dans les cellules thécales, dans la granulosa et dans l'interstitielle qui, bien que peu étendue, a une plus forte activité succinate déhydrogénasique que les follicules [Bernstorff 1959 (42)].

Chez la Chienne, l'intensité de la réaction enzymatique est importante dans les thèques, moindre dans l'ovocyte et les corps jaunes [Nachlas et coll. 1957 (313)].

AGISSANT SUR LE GROUPEMENT CH-NH₂ DES DONNEURS (I.4).

- Avec NAD ou NADP comme accepteur (I.4.I).

Glutamate déhydrogénase (I.4.I.2).

Dans les ovaires humains, l'activité glutamate déhydrogénasique se développe principalement au niveau du corps jaune gravidique, des cellules interstitielles et des thèques des follicules tertiaires ; la granulosa et le corps jaune cyclique sont peu réactifs [Konig 1965 (249), (250)].

- Avec un oxygène comme accepteur (I.4.3).

Monoamine oxydase (I.4.3.4).

La répartition de cette enzyme dans l'ovaire humain suit de très près celle de la glutamate déhydrogénase [Konig 1965 (249), (250)].

Diamine oxydase (histaminase) (I.4.3.6).

Arvy 1960 (15) a montré que dans les ovaires de Lapine la réaction enzymatique est intense dans l'interstitielle, faible dans les follicules, nulle dans les corps jaunes ; d'autre part la thèque interne des follicules présente une légère positivité vis-à-vis du réactif Nadi : les ovaires de ces animaux renfermeraient donc une nadi-oxydase.

AGISSANT SUR LE NAD OU NADP REDUITS (I.6).

Lipoamide déhydrogénase (diaphorase) (I.6.4.3).

Les cellules de la thèque interne sont riches en NAD diaphorase, contrastant avec celles de la thèque externe qui en sont dépourvues ; quand les corps jaunes se développent, les cellules de la granulosa deviennent intensément réactives [Ikonen et coll. 1961 (215), Foraker et coll. 1961 (171)]. La répartition de la NADP diaphorase est identique [Konig 1965 (250)]. Dans les ovaires de Ratte la NAD diaphorase serait en relation avec la 20- α -hydroxystéroïde déhydrogénase [Balogh 1964 (29)].

Les corps jaunes de Souris gravides présentent des activités diaphorasiques intenses [Merklin 1958 (293)] ; il en est de même des cellules thécales et folliculaires des ovaires de Poisson en ce qui concerne la NAD diaphorase [Bara 1965 (34)].

AGISSANT SUR LE GROUPEMENT " HEME " DES DONNEURS (I.9).

Cytochrome oxydase (cytochrome a_3) (I.9.3.1).

Que ce soit chez la Ratte, [Mc Shan et coll. 1948 (288)], chez la Brebis [Arvy et coll. 1964 (18)], ou chez la Femme [De Cecco et coll. 1961 (123)], l'activité enzymatique est intense au niveau du corps jaune, dans les mitochondries [De Cecco et coll. 1961 (123)] ; cependant que le stroma ovarien et les follicules des ovaires humains sont peu réactifs [Hannibal et coll. 1960 (201)]. Petrucci 1959 (343), étudiant les ovaires d'Amphibiens, montra que cette enzyme est située dans les mitochondries.

AGISSANT SUR LE PEROXYDE D'HYDROGENE COMME ACCEPTEUR (I.11).

Catalase (I.11.I.6).

Nowkunski et coll. 1963 (328) ont suivi les variations de la catalase dans les ovaires de Ratte sous l'influence de divers facteurs médicamenteux.

Peroxydase (I.11.I.7).

Chez la Brebis les corps jaunes gravidique et cyclique manifestent une importante activité peroxydasique [Arvy et coll. 1964 (18)].

OXYGENASES (I.13)

Tryptophane oxygénase (I.13.I.12).

Appelée encore tryptophane pyrrolase, cette oxygénase avait été identifiée dans le foie de divers mammifères ; Spiegel et coll. 1964 (408) ont mis en évidence une activité enzymatique importante dans les homogénats d'ovaires de grenouilles immatures.

HYDROXYLASES (I.14).

Stéroïdes 16- α -hydroxylase

En 1961, Warren et coll. (446) montrèrent que les ovaires humains, au niveau des follicules, possèdent une enzyme capable de convertir *in vitro* la progestérone-4¹⁴C en 16- α -hydroxyprogestérone. Dans l'ovaire de Truie, cette hydroxylase est localisée dans les microsomes [Kadis 1966 (236)].

Stéroïdes 17- α -hydroxylase (I.14.I.7).

L'hydroxylation des 17- α -stéroïdes semble tomber dans la catégorie des réactions d'oxydations biologiques nécessitant du NADH₂, de l'oxygène moléculaire et un groupement cétonique ; l'enzyme responsable de l'hydroxylation se rencontre dans la fraction microsomale de l'ovaire de Truie [Ball et coll. 1965 (28)].

II - TRANSFERASES.

GLYCOSYLTRANSFERASES OU TRANSGLYCOSYLASES (2.4).

- Hexosyltransférases (2.4.I).

Glycogène phosphorylase (α -glucan phosphorylase) (2.4.I.I).

Cette phosphorylase se rencontre dans les ovaires de Femme [Takeuki 1958 (417), Foraker et coll. 1961 (171)] et de Lapine [Takeuki 1958 (417)].

Amylophosphorylase.

Chez la Lapine c'est au niveau des follicules primaires que se situe l'enzyme [Arvy 1959 (14)]. Dans les ovaires humains l'activité amylophosphorylasique se manifeste au niveau des vaisseaux sanguins ainsi que dans quelques cellules lutéiniques [Takeuki et coll. 1955 (418), Foraker et coll. 1961 (171)]; les follicules en sont dépourvus [Takeuki et coll. 1955 (418)].

TRANSFERANT LES GROUPEMENTS CONTENANT N (2.6).

Aspartate amino-transférase (glutamique-oxaloacétique transaminase) (2.6.1.1).

Alanine amino-transférase (glutamique-pyruvique transaminase) (2.6.1.2).

Ces deux enzymes se trouvent dans les ovaires de Ratte [Puchol et coll. 1959 (354), 1960 (355)], de Cobaye [Lo Stumbo 1960 (271)] et de Femme où Lo Stumbo et coll. 1960 (272) ont déterminé quantitativement, à tous les stades de la vie sexuelle le taux de l'activité de la G.P.T. .

TRANSFERANT LES GROUPEMENTS CONTENANT P (2.7).

Protéine kinase (2.7.1.37).

Wallace 1964 (443) a mis en évidence dans l'ovaire de Rana pipiens une ATP : protéine phosphotransférase.

TRANSFERANT LES GROUPEMENTS CONTENANT S (2.8).

Thiosulfate sulfurtransférase (rhodanèse) (2.8.1.1).

Cette enzyme a été déterminée quantitativement dans les ovaires de Grenouille [Castella Bertran et coll. 1951 (88)], de Poule [Castella Bertran 1952 (87)] et de Chienne [Sanz Sanchez et coll. 1950 (394)].

III - HYDROLASES.

AGISSANT SUR LES LIAISONS ESTERS (3.1).

- Hydrolases d'esters carboxyliques (3.1.1).

Nous étudierons dans ce paragraphe les carboxylesterases (aliestérases) (3.1.1.1) et les arylesterases (3.1.1.2).

La répartition des activités estérasiques varie avec l'espèce étudiée et le substrat mis en œuvre.

Le tissu lutéinique, chez la Chienne, la Lapine, le Cobaye, la Ratte, la Souris est toujours riche en estérases carboxyliques [Gomori 1946 (191), Verne et coll. 1952 (440), Arvy 1950 (11), Barrnett 1952 (36), Ishida 1954 (216), Grieten 1955 (198), Buno et coll. 1950 (80), Hunter et coll. 1957 (213)].

Chez la Ratte, où Robboy et coll. 1964 (369) avaient mis en évidence avec comme substrat le butyrate d' α -naphtol, sept isoenzymes, Verne et coll. 1952 (440) estimèrent que les corps jaunes constituaient la seule localisation cependant que les cellules interstitielles [Verne 1952 (439), Deane 1952 (118)] l'épithélium germinatif et les follicules [Barrnett 1952 (36)] sont riches en estérases. Pour Chessick 1953 (93) l'épithélium des follicules de De Graaf au terme de leur évolution hydrolyse les acétates d' α -naphtol et de naphtol AS. Certaines cellules du stroma ovarien éparpillées et non identifiées hydrolysent l'acétate de 5-bromo-indoxyle [Pearson et coll. 1957 (340)].

Dans les ovaires de Souris, Kauffold 1965 (244) a mis en évidence des inclusions estérasiques dans les ovocytes. Chez le Cobaye, le Lapin, le Singe rhésus, Bulmer 1964 (75) décèle dans les cellules de la granulosa, dans le corps jaune, l'épithélium germinatif, les fibres du stroma et de la thèque externe une nette activité enzymatique, qui, chez le Hamster [Knigge et coll. 1956 (247)], ne se manifeste qu'au niveau du stroma et de l'épithélium germinatif.

Chez la Brebis, le tissu lutéinique hydrolyse l'acétate d' α -naphtol ainsi que quelques massifs de cellules disséminés dans le stroma ovarien et plus ou moins abondants suivant les animaux [Arvy et coll. 1965 (19)].

Chez la Femme, bien que Chessick 1953 (93), Nachlas et coll. 1949 (314), Malaty et coll. 1954 (276) aient trouvé une activité estérasique négative, Jirasek 1961 (221) montra que les cellules de l'ovule, de la granulosa, les cellules épithéliales et lutéales des théques réagissent intensément. Cette enzyme est aussi présente dans les cellules du hile et dans les corps jaunes cyclique et gravidique [Mc Kay et coll. 1961 (286)]. Enfin Bulmer 1965 (78) met en évidence la présence d'estérases organophosphate sensibles (enzymes type B) et organophosphate résistantes (enzyme type C) dont la répartition dans l'ovaire humain n'est pas identique.

Dans l'ébauche de la gonade femelle gauche de Gallus domesticus, les estérases carboxyliques se rencontrent dans le mésenchyme sous cortical qui se disposera en thèques autour des follicules [Delforge et coll. 1965 (129)].

Lipase (3.I.I.3).

La localisation de cette enzyme varie selon l'espèce animale. Le liquide folliculaire de Truie [Schochet 1920 (401)], le corps jaune de Chienne, de Cobaye [Gomori 1946 (191)], de Souris [Marc Quen et coll. 1950 (279)], de Ratte pubère [Verne 1952 (439), Ishida 1954 (216)] et de Lapine [Gomori 1946 (191), Capria et coll. 1960 (83)] sont riches en lipase.

Dans l'ovaire de Femme, Mega 1961 (291), Onnis et coll. 1962 (332), montrèrent une activité lipasique dans la zone corticale, la granulosa et les thèques, tandis que pour König 1965 (250), et pour Jung 1965 (228) les corps jaunes cyclique et gravidique ont seuls une faible activité enzymatique.

Cholinestérases.

Il existe deux variétés d'enzyme capables d'assurer in vitro l'hydrolyse de l'acétylcholine ; la première est représentée par la cholinestérase vraie ou acétylcholinestérase (3.I.I.7) qui détruit l'acétylcholine in vivo ; l'autre enzyme est une estérase douée de larges possibilités hydrolytiques, en particulier celle de cliver l'acétylcholine, c'est la pseudo-cholinestérase (3.I.I.8). Ces enzymes seront étudiées parallèlement.

Dès 1939 Glick et coll. (183) déterminèrent le taux de cholinestérase de l'ovaire de Truie ; il s'agit pour une faible part de cholinestérase spécifique mais surtout de cholinestérase non spécifique. Les ovaires de Batraciens, de Reptiles possèdent une activité cholinestérasique positive [Kaswin et coll. 1945 (243)]. Il en est de même chez la Ratte [Sawyer et coll. 1947 (399)] où Panigatti 1958 (338) met en évidence une pseudo-cholinestérase dans les cellules de Schwann et les cellules interstitielles de Cajal, dans les fibres des muscles lisses ainsi que dans les cellules thécales et lutéiniques.

Chez les Bovidés et les Ovidés, cette enzyme se rencontre dans les follicules ovariens [Moriconi et coll. 1963 (304)].

Le corps jaune de Lapine [Arvy 1960 (15)] et de Cobaye [Grieten 1955 (198)] est le siège d'une activité butyrylthiocholinestérasique ; il en est de même des cellules de la granulosa et des fibres de la thèque externe des ovaires de Cobaye ainsi que des cellules interstitielles des ovaires de Lapine [Bulmer 1965 (76)].

Les ovaires de Femme manifestent une activité cholinestérasique [Zambotti et coll. 1949 (468)] localisée au niveau des cellules du hile, de la granulosa, des thèques des follicules tertiaires [Konig et coll. 1963 (251), König 1965 (249), Jung 1965 (228)].

Cholestérol estérase (3.I.I.13).

En 1910 Kondo [in Javillier et coll. 1964 (220)], signala qu'une enzyme présente dans le foie de Cheval et de Bœuf pouvait hydrolyser les esters du cholestérol en libérant les acides gras. Mori 1955 (303) découvrit une cholestérol estérase dans les ovaires de Ratte, existant sous deux formes, l'une ayant une activité estérifiante et l'autre hydrolysante.

- Hydrolases de monoesters phosphoriques (3.I.3).

Phosphatase alcaline (phosphomonoestérase alcaline) (3.I.3.I).

Très nombreux sont les travaux venus souligner l'activité phosphatasique alcaline au niveau des ovaires tant chez les invertébrés que chez les vertébrés.

En ce qui concerne les premiers, nous citerons les travaux de Krugelis 1947 (254), (255), Husson 1953 (214), Wicklund 1948 (453) sur quelques invertébrés marins ; de Montalenti et coll. 1948 (300), De Nicola 1949 (128) sur Limnea stagnalis ; de Roche 1951 (372) sur Asellus aquaticus, d'Erasmus 1957 (149), (150) sur Taenia pisiformis et Cysticercus tenuicollis ; de Yao 1950 (466), (467) sur Drosophila melanogaster ; de Ramamoorthi 1959 (362) sur Pila virens, et de Bradfield 1946 (57) sur les ovaires de Chenilles et d'Araignées. Ces auteurs décelèrent l'enzyme principalement dans les nucléoles des ovocytes.

Chez les vertébrés inférieurs, l'ovocyte est le siège d'une activité phosphatasique alcaline que ce soit dans l'ovaire de Poisson [Kugler 1953 (257), Krishnamoorthy 1959 (253), Venugopalan 1961 (438)] ou de Batraciens [Krugelis 1947 (256), Arvy et coll. 1953 (17)].

Chez les vertébrés supérieurs :

Dès le stade d'embryon, l'ovaire humain présente une activité phosphatasique [Rossi et coll. 1951 (373), Kar et coll. 1952 (240), Nishimura 1961 (325)]. Les ovaires de Femmes pubères furent étudiées par Corner 1944 (107), Moschino 1948 (306), Nogales et coll. 1955 (326), Genesi 1953 (182), König 1965 (249).

La phosphatase alcaline se trouve en quantité notable dans les capillaires, la thèque interne et la granulosa des follicules, ainsi que dans le corps jaune où Garzon 1951 (180) et Taki et coll. 1966 (420) l'ont étudiée. Les cellules du hile [Dhom et coll. 1956 (134)], les follicules primordiaux [Milio 1960 (298), Milio et coll. 1960 (299), Mc Kay et coll. 1961 (286), Deane et coll. 1962 (120)] réagissent positivement ainsi que la thèque interne des follicules mûrs [Taki et coll. 1966 (420)]. Chez le Singe rhésus, la localisation est identique [Gomori 1941 (190), Corner 1944 (107), 1948 (108)].

Chez la Vache, les endothélia, les théques et la granulosa de tous les follicules, la membrane pellucide ainsi que le tissu lutéinique cyclique sont riches en enzyme [Moss et coll. 1954 (309), Sykes et coll. 1955 (414)].

Chez la Brebis, la phosphatase alcaline se trouve dans la thèque interne des follicules qui ont atteint environ le dixième de leur taille définitive ainsi qu'au niveau de la thèque externe et de la granulosa ; les follicules de De Graaf en cours d'atrophie et le liquide folliculaire sont très fortement réactifs [Hadek 1958 (199)]. Chez la Chèvre, Dhanda et coll. 1961 (133) ont mis en évidence cette enzyme dans les cellules de la thèque interne des follicules tertiaires. Dans l'ovaire de Truie, où l'activité phosphatasique se manifeste dès le stade embryon [Bielanska-Osuchowska 1965 (48)], elle est très nette dans les parois des capillaires [Gomori 1941 (190)], dans les cellules de la thèque interne [Corner 1944 (107)], au niveau du corps jaune [Gomori 1941 (190), Jung et coll. 1962 (231)] et du corps rouge [Jung 1962 (226)] ainsi que dans le liquide folliculaire [Jung et coll. 1959 (229), (230), Kyubar 1964 (260)] cependant que les cellules de la granulosa en sont dépourvue [Good et coll. 1965 (192)]. Il faut souligner que Turvs'kii et coll. 1966 (432) n'ont pas trouvé de phosphatase alcaline dans le liquide folliculaire ainsi que dans les ovocytes.

Chez la Chienne, l'ovaire est très riche en enzyme [Castella Bertran 1950 (85)]; celle-ci se situe dans les cellules de la thèque interne [Gomori 1941 (190), Corner 1944 (107), Kurata 1958 (259)], dans les cellules folliculaires et lutéales [Kurata 1958 (259)] ainsi que dans l'endothélium des capillaires [Gomori 1941 (190)]; au niveau de la pellucide, sa localisation est en relation avec celle des mitochondries [Kabra et coll. 1967 (234)]. Dans l'ovaire de Chauve-souris [Wimsatt 1949 (464)] et de Pigeon [Kar 1950 (238)], l'activité phosphatasique se manifeste principalement au niveau de la thèque interne, il en est de même chez la Poule adulte [(Abe et coll. 1962 (4), Wilcox et coll. 1965 (460)] ou à l'état d'embryon [Delforge et coll. 1965 (129)].

Chez le Cobaye, le tissu glandulaire réagit positivement [Zawistowska 1956 (470)]; l'épithélium germinatif, le noyau des cellules de la granulosa [Deb et coll. 1957 (121), Banerjee et coll. 1963 (31)], les cellules de la thèque interne [Corner 1944 (107), Newman et coll. 1950 (322), Deb et coll. 1957 (121)] ainsi que les cellules du corps jaune cyclique [Gomori 1941 (190)] et du corps jaune gravidique [Corner 1944 (107)] sont riches en enzyme. Chez le Hamster le corps jaune ne présente qu'une réaction modérée [Knigge et coll. 1956 (247)] alors que les fibres des théques ainsi que les follicules renferment des quantités importantes de cette phosphatase [Moog et coll. 1952 (302)].

Dans l'ovaire de Lapine, cette enzyme se trouve dans le corps jaune [Takeuki et coll. 1954 (419), Arvy 1960 (15)], dans l'épithélium des follicules tertiaires, l'intima des vaisseaux, l'albuginée [Tako 1960 (422)] ainsi que dans la granulosa et dans la thèque interne [(Arvy 1960 (15), Kurata 1958 (259)]. Dans les ovaires de Souris la répartition est identique; les ovocytes présentent des inclusions phosphatasiques [Kauffold 1965 (244)] localisées dans les granules mitochondriaux du cytoplasme [Mulnard 1956 (312)].

Les tissus ovariens de Ratte sont riches en phosphatase alcaline, que ce soit chez l'embryon [Mc Alpine 1955 (285), Verne et coll. 1959 (441)] ou chez l'animal pubère [Dastugue, Bastide, Renard 1966 (114)]. Le corps jaune est le siège principal de l'activité enzymatique [Stafford et coll. 1947 (409), Talbert et coll. 1948 (424), Hebert et coll. 1952 (206)]; les théques réagissent aussi très nettement [Malone 1960 (277), Arezzi-Boza 1964 (8)] de même que l'intima des artérioles, l'adventice des veines du hile et de la zone médullaire [Verne et coll. 1952 (440)]. Mulnard 1956 (312), étudiant particulièrement les ovocytes, situa l'enzyme au niveau des granules mitochondriaux.

Phosphatase acide (phosphomonoestérase acide) (3.1.3.2).

Chez les invertébrés et les vertébrés inférieurs, cette enzyme se situe au niveau des ovocytes; la localisation est surtout nucléaire [Yao 1950 (466), (467)]. Les ovaires de Batraciens anoures et urodèles et de Téléostéens manifestent une activité phosphatasique acide [Arvy 1949 (10)] au niveau des épithéliums folliculaires [Arvy 1954 (12), 1956 (13)].

Deb et coll. 1957 (121) n'ont pas pu mettre en évidence cette enzyme dans les ovaires de Pigeon cependant que Abe et coll. 1962 (4) décelèrent une activité chez la Poule. Delforge et coll. 1965 (129), étudiant l'ébauche de la gonade gauche de Gallus domesticus ont montré que la phosphatase acide se trouve dans le tissu cortical et les structures qui en dérivent.

Cette phosphatase se trouve dans les ovaires de Ratte [Dastugue, Bastide, Renard 1966 (114)], de Lapine, de Souris [Kurata 1958 (259)], de Cobaye [Banerjee et coll. 1963 (31)], de Chienne [Castella Bertran 1950 (85)]. Chez la Ratte où Robboy et coll. 1964 (369) avaient mis en évidence quatre isoenzymes, la réaction est nette au niveau du cytoplasme de l'ovocyte [Mulnard 1956 (312)], dans les cellules de la granulosa à tous les stades de développement du follicule, dans les cellules du corps jaune et du follicule atresique [Gould et coll. 1961 (195)].

Chez la Lapine, tandis que le liquide folliculaire et la pellucide sont dépourvus d'enzyme, l'ovoplasme et la granulosa ont une activité intense de même que l'interstitielle et le tissu lutéinique [Arvy 1960 (15)]; chez la Souris, cette phosphatase apparaît dans les thèques au moment de la puberté [Delsol et coll. 1954 (127)].

Les ovaires de Génisse ont une réaction enzymatique très nette [Zusman 1961 (473)] de même les follicules ovariens de Truie [Dempsey et coll. 1949 (131)] ainsi que le corps jaune et le corps rouge [Jung et coll. 1959 (229), 1962 (231)]; Good et coll. 1965 (192) décelèrent parfois au niveau de la thèque interne une faible réactivité.

Chez la Femme, cette enzyme se trouve dans les follicules primaires, dans les cellules interstitielles, les cellules du hile, de même que dans les corps jaunes cyclique et gravidique [Mc Kay et coll. 1961 (286), König 1965 (250), Jung 1965 (228)].

Nucléotidases.

En 1961 Cerletti et coll. (90) déterminèrent par électrophorèse la présence d'adénosine-5-phosphatase dans le liquide folliculaire d'ovaires humains ; cette même année, Mc Kay et coll. (286) l'ont mise en évidence dans le stroma ovarien, dans les follicules primaires et tertiaires. Deane et coll. 1962 (120), décelèrent une 5'-nucléotidase (3.I.3.5) dans les parois des gros vaisseaux des follicules ainsi que dans les parois des artères, artérioles et veinules du corps jaune cyclique.

Dans l'ovaire de Lapine, Takeuki et coll. 1954 (419) ont observé des activités 5-ribonucléotidasique et riboflavine nucléotidasique dont la répartition n'est pas identique : il semble que cette dernière n'existe qu'au niveau de certains vaisseaux sanguins et à la périphérie de l'ovocyte [Arvy 1960 (15)].

Glucose-6-phosphatase (3.I.3.9).

König 1965 (250) n'a pu mettre en évidence cette enzyme dans les ovaires humains.

Phosphoprotéine phosphatase (3.I.3.16).

Nass 1962 (317) a montré sa présence dans la fraction pigmentaire d'homogénats d'ovaires de Grenouille.

- Hydrolases des esters sulfuriques (3.I.6).

Arylsulfatases (3.I.6.1).

Ces enzymes hydrolysant les monoesters sulfuriques de phénols se trouvent dans l'ovaire humain au niveau du corps jaune [Sandberg et coll. 1966 (391)].

Stérol sulfatase (3.I.6.2).

Jusqu'à présent, cette sulfatase a été étudiée uniquement dans l'ovaire de Femme [Sandberg et coll. 1966 (391)].

AGISSANT SUR LES COMPOSES GLYCOSYL (3.2).

- Hydrolases des glycosides (3.2.I).

Lysozyme (muraminidase)(3.2.I.17).

Cette enzyme capable de lyser très rapidement les suspensions de *Micrococcus lysodéiklieus*, se trouve dans le liquide folliculaire humain [Cottafavi 1956 (109)].

α -Glucosidase (maltase) (3.2.I.20).

Konig 1965 (249) a montré que la réaction était négative dans l'ovaire humain.

β -Galactosidase (lactase) (3.2.I.23).

Les tissus ovariens de Ratte et de Souris impubères [Conchie et coll. 1956 (105)] et pubères [Conchie 1957 (103)] ont une activité galactosidasique localisée, chez la Ratte au niveau du cytoplasme des cellules épithéliales [Cohen et coll. 1952 (101)], du corps jaune, des cellules interstitielles et de quelques macrophages [Bulmer 1964 (74)]. Ce même auteur, en 1965 (77) faisant appel à une méthode au 6-bromo-2-naphtol, a obtenu des résultats opposés. Tandis que chez la Lapine, l'activité β -galactosidasique est importante au niveau des cellules interstitielles, elle est faible chez le Cobaye et le Singe [Bulmer 1964 (74)].

Dans l'ovaire de Femme, de Vache et de Truie, les corps jaunes menstruel et gravidique sont les sites principaux de l'activité enzymatique [Levy et coll. 1961 (267)]. Bien que la β -galactosidase soit considérée comme enzyme lysosomique, sa répartition dans l'ovaire diffère de celle de la phosphatase acide

utilisée en général, comme indicateur d'activité lysosomique [Bulmer 1964 (74)].

α -Mannosidase (3.2.I.24).

Cette enzyme est présente chez la Ratte et la Souris impubères [Conchie et coll. 1959 (104)] et pubères [Conchie 1957 (103)]. Les ovaires de Femme, de Truie, de Vache manifestent une activité importante au niveau des corps jaunes tandis qu'elle est négligeable dans le liquide folliculaire et les tissus ovariens restants [Levy 1960 (264), Levy et coll. 1961 (267)].

Chitobiase (N-acétyl- β -glucosaminidase) (3.2.I.29).

Dans l'ovaire de Femme, de Vache et de Truie, sa répartition est identique à celle de la β -D-fucosidase [Levy et coll. 1961 (267)]. Tandis que chez la Ratte, Pugh et coll. 1961 (357) ont montré que le tissu interstitiel renferme des groupes de cellules fortement colorées, les follicules tertiaires et le corps jaune réagissent modérément ; Conchie 1957 (103), Conchie et coll. 1959 (106) ont mis cette enzyme en évidence chez la Ratte et la Souris impubères.

β -Glucuronidase (3.2.I.31).

Que ce soit chez la Femme [Levy et coll. 1961 (267), König 1965 (250)], la Vache et la Truie [Levy et coll. 1961 (267)], le corps jaune est le siège principal de l'activité enzymatique.

Le taux de β -glucuronidase faible chez la Ratte impubère [Conchie et coll. 1959 (106)] devient important chez l'animal adulte [Fishman 1955 (161)]. En ce qui concerne la localisation, les résultats diffèrent selon les techniques utilisées [Bulmer 1963 (73), 1965 (77)] toutefois, le corps jaune reste toujours très réactif [Friedenwald et coll. 1948 (177), Seligman et coll. 1954 (404), Fishman et coll. 1956 (163), Hayashi 1964 (203)].

Amylo 1-6 glucosidase (3.2.I.33).

Cette glucosidase existe dans les follicules primaires de Lapine ; l'ovocyte et l'épithélium des follicules au terme de leur évolution ont peu ou pas d'activité enzymatique : c'est au cours de la gestation et au niveau des cellules lutéiniques que l'activité est la plus forte [Takeiki 1958 (417)].

β - D- Fucosidase (3.2.I.38).

Que ce soit chez la Femme, la Vache ou la Truie, cette enzyme se situe principalement au niveau du corps jaune, tandis que le liquide folliculaire et les autres tissus ovariens ont une activité négligeable ou nulle [Levy 1960 (264), Levy et coll. 1961 (267)].

AGISSANT SUR LES LIAISONS PEPTIDIQUES (3.4).

- Hydrolase des α -amino-acyl-peptides (3.4.I).Leucine aminopeptidase (3.4.I.I).

Présente en quantité importante chez le Cobaye dans l'albuginée, l'épithélium germinatif, les vaisseaux sanguins et les follicules [Nachlas et coll. 1957 (313)], cette enzyme fut aussi localisée dans les ovaires de Femme principalement dans les thèques et le corps jaune de gestation [Konig 1965 (250)].

- Hydrolases de dipeptides (3.4.3).

Les ovaires humains présentent une activité protéolytique [Jung 1962 (226)] mentionnée dès 1942 par Abderhalden et coll. (3) utilisant comme substrat la glycyl-l-leucine et la leucyl-d-l-leucine; elle est nette au niveau du corps jaune et du liquide folliculaire [Jung 1965 (228)] où déjà Kaulla et coll. 1954 (245) avaient indiqué la présence d'une substance apparentée au plasmिनogen (3.4.4.14) atteignant son activité maximum à pH 3,5 [Jung 1964 (227)]. Dès 1943 Petry (344) montra que le liquide folliculaire des ovaires de Truie contenait une protéinase agissant sur les parois des follicules, ce qui fut confirmé par Jung 1959 (225), Jung et coll. 1962 (231), Jung 1965 (228) qui de plus montrèrent que le corps jaune et le corps rouge étaient le siège d'une activité enzymatique intense; il semble pour Muller 1961 (311) que la thèque interne des follicules produise une quantité importante de cette variété d'enzyme. Les ovaires de Truie renfermeraient aussi une ocytocinase [Fried et coll. 1954 (176)].

Dans les tissus ovariens de Ratte [Reichert 1962 (365)] et de bovidés [Petry 1943 (344), Jung et coll. 1959 (230)], l'activité protéinasique est importante.

- Hydrolases de peptidyl peptides (3.4.4).

Pepsine (3.4.4.I), trypsine (3.4.4.4) et cathepsine (3.4.4.9) ont été mises en évidence dans les ovaires de Femme et de Truie [(Jung et coll. 1959 (229)].

AGISSANT SUR LES LIAISONS C - N AUTRES QUE LES LIAISONS PEPTIDIQUES (3.5).

Vanha-Pertulla et coll. 1966 (437) ont montré que les homogénats d'ovaires de Ratte sont capables d'hydrolyser le l-leucyl et le D-l-alanyl- β -naphtylamide en libérant de la β -naphtylamine; ces enzymes hydrolytiques peuvent être apparentées à des amidases.

Désoxycytidilate déaminase (3.5.4.12).

Cette enzyme fut étudiée chez la Femme par Palmieri et coll. 1964 (337).

AGISSANT SUR LES LIAISONS ANHYDRIDE D'ACIDE (3.6).

Adénosine triphosphatase (3.6.1.8).

Chez la Ratte, le corps jaune est le siège principal de l'activité ATPasique bien qu'elle ne soit pas négligeable dans les autres tissus ovariens [Biddulph et coll. 1946 (46)]. Chez la Lapine et chez la Femme, cette enzyme se situe au niveau des vaisseaux sanguins [Arvy 1960 (15), Deane et coll. 1962 (120), Jung 1965 (228), Konig 1965 (250)].

L'ATPase se rencontre aussi chez les invertébrés. Metafora et coll. 1965 (294) ont mis en évidence dans les ovaires de *Cionna intestinalis* trois activités enzymatiques distinctes par leur caractéristiques cinétiques.

AGISSANT SUR LES LIAISONS P - N (3.9).

Phosphamidases (3.9.1.1).

Dans l'ovaire de Femme, cette enzyme se trouve dans les follicules primaires [Neumann et coll. 1954 (320)], dans les follicules tertiaires où l'activité est intense au niveau de la granulosa ; les cellules interstitielles, les corps jaunes cyclique et gravidique sont très réactifs [Konig 1965 (250)].

IV - LYASES.

LYASES CARBONE - CARBONE (4.1).

Aldolase (4.1.2.7).

A tous les stades de la vie sexuelle, les ovaires humains ont une activité aldolasique importante [Lo Stumbo et coll. 1960 (272)] localisée dans les noyaux des cellules des thèques et de la granulosa des follicules de De Graaf, cependant que la granulosa des follicules primaires en est dépourvue [Onnis et coll. 1962 (332)]. Lo Stumbo 1960 (271) a montré la présence d'aldolase dans l'ovaire de Cobaye.

LYASES CARBONE - OXYGENE (4.2).

Anhydrase carbonique (4.2.I.I).

Cette enzyme se trouve dans l'ovaire de Truie [Castella Bertran 1952 (86), (87)], de Lapine au niveau des follicules de De Graaf [Arvy 1960 (15)] et de Femme, en particulier dans le corps jaune de grossesse [Konig 1965 (250)].

V - ISOMERASES.

OXYDOREDUCTASES INTRAMOLECULAIRES (5.3).

Stéroïde Δ - isomérase (5.3.3.I).

Cette enzyme transformant les Δ^5 3-cétostéroïdes en Δ^4 3-cétostéroïdes fut mise en évidence dans les cellules de la granulosa d'ovaires de Truies impubères [Bjersing et coll. 1964 (49)] ainsi que chez la Femme [Goldberg 1964 (186)].

VI - LIGASES.

FORMANT DES LIAISONS C-N (6.3).

Glutamine synthétase (6.3.I.2).

Elle est présente dans les ovaires de Cobaye au niveau des follicules mûrs et atrophiques, des cellules de l'œuf et du corps jaune gravidique [Jonek et coll. 1965 (224)]. Ces auteurs en 1966 (223) montrèrent que sa répartition varie d'une manière significative avec l'espèce.

CHAPITRE II

ENZYMES ET METABOLISMES

I - METABOLISME DES HORMONES OVARIENNES.

L'ovaire secrète deux types principaux d'hormones femelles, les hormones folliculaires ou œstrogènes produites par le follicule de De Graaf et les hormones progestatives qui proviennent du corps jaune formé à partir du follicule après sa rupture. Le mécanisme de biosynthèse de ces deux hormones est étroitement lié, puisque la progestérone peut être une étape dans la synthèse des œstrogènes [Savard et coll. 1965 (397)] .

Les stéroïdes ovariens peuvent être synthétisés à partir de l'acétate, à partir du cholestérol et à partir des androgènes.

- à partir de l'acétate .

In vitro, les perfusions d'ovaires de Truie, avec un milieu contenant de l'acétate marqué par le carbone 1-¹⁴C donnent naissance à de l'œstrone et à de l'œstradiol 17- β marqués [Werthessen et coll. 1953 (451)] . Rabinowitz et coll. 1955 (360) ont démontré l'incorporation du 2-¹⁴C acétate en cholestérol, œstrone et œstradiol 17- β par des coupes et des homogénats d'ovaires de Chiennes ; d'autre part, Sweat et coll. 1960 (412) montrent la biosynthèse, in vitro, à partir d'un acétate 1-¹⁴C incubé avec des corps jaunes humains et bovins , de progestérone, androstène-dione, œstrone et œstradiol 17- β . Sur des coupes d'ovaires humains, Wotiz et coll. 1959 (465), Rice et coll. 1966 (368) ont obtenu à partir d'acétate marqué, la formation d'œstrone et d'œstradiol 17- β , tandis qu'O'Donnel et coll. 1959 (330) obtenaient ces œstrogènes ainsi que l'œstriol avec des ovaires présentant un syndrome de Stein-Leventhal. Hammarstein et coll. 1964 (200), sur des coupes de

corps jaune, ont effectué la biosynthèse de sept stéroïdes radioactifs : progestérone, 20- α -hydroxy- Δ^4 -prégnène-3-one, 17-hydroxy-progestérone, Δ^4 androstène-3, 17-dione, œstradiol 17- β , œstrone, prégénolone.

- A partir du cholestérol.

Sur des ovaires de Lapine, Cleasson et coll. 1947 (100) auraient identifié un ester du cholestérol comme promoteur ovarien des œstrogènes ; leur conclusion est basée sur le fait que la concentration du cholestérol diminue rapidement dans l'ovaire après injection de gonadotrophines. Chez la Ratte impubère, Falk 1953 (151) a démontré que la réponse ovarienne aux gonadotrophines se produit au moment d'une accumulation du cholestérol dont la concentration diminue ensuite brusquement. Chez la femme enceinte, le 4- ^{14}C cholestérol est converti en œstrone que l'on retrouve dans les urines [Werbin et coll. 1957 (450)].

- A partir des androgènes.

In vitro, des séries d'expériences effectuées par Meyer 1955 (295), Ryan 1958 (384), 1959 (385), Dorfman 1958 (139), Ryan et coll. 1966 (387), Plotz et coll. 1966 (350) prouvèrent que la transformation des androgènes en stéroïdes phénoliques à dix huit atomes de carbones peut être effectuée par de nombreux tissus, en particulier par l'ovaire. Inversement, Aakvaag et coll. 1964 (1) ont montré que les ovaires de Chienne pouvaient synthétiser, in vivo, des androgènes à partir d'œstrogènes.

Métabolisme intermédiaire, in vivo et in vitro.

Les travaux de Short 1962 (405) sur des ovaires de Jument, de Sweat et coll. 1960 (413) sur les corps jaunes humains et bovins, de Forleo et coll. 1964 (174), Ryan 1965 (386), Savard et coll. 1965 (397), chez la Femme, ont permis de mettre en évidence de nombreuses étapes dans le métabolisme des œstrogènes de l'ovaire. Quel va être le point d'action des enzymes impliquées dans ce métabolisme ?

La transformation du cholestérol en prégnène-ol-one passe par les étapes suivantes : cholestérol $\longrightarrow$ 20- α -hydroxycholestérol $\longrightarrow$ 20,22-dihydroxycholestérol $\longrightarrow$ 5-prégnène-ol-one [Savard et coll. 1965 (397)]. Tamoaki et coll. 1961 (425) ont montré dans les tissus ovariens de Vache la présence d'une desmolase clivant la chaîne latérale du cholestérol; cette enzyme se situe surtout au niveau

du corps jaune ; pour Savard et coll. 1965 (397), le clivage de la chaîne latérale dépend d'un complexe enzymatique contenant une 20- α -hydroxylase.

- Métabolisme de la progestérone.

La biosynthèse de la progestérone à partir de la prégèneol-one peut avoir lieu dans l'ovaire, en particulier au niveau du corps jaune, que ce soit chez la Chienne, chez la Femme, ou chez la Ratte [Aakvaag et coll. 1964 (2), Huang et coll. 1962 (211), Hammarstein et coll. 1964 (200)].

Deux enzymes interviennent dans cette réaction : la 3- β -hydroxystéroïde déhydrogénase et la Δ^4, Δ^5 isomérase [Pincus 1956 (346), Smith et coll. 1961 (407), Lamprecht et coll. 1966 (262)], jouant ainsi le rôle de pivot dans la biosynthèse des hormones stéroïdes [Samuels 1960 (390)]. L'intervention de la phosphorylase a été discutée : le 3'5'AMP augmenterait la stéroïdogénèse dans l'ovaire de Lapine [Dorrington et coll. 1967 (141)]. Or on a montré que ce nucléotide active la phosphorylase et par conséquent stimule la dégradation du glycogène dans le foie [Rall et coll. 1958 (361)] et dans les surrénales [Haynes 1958 (204)]; cependant dans l'ovaire il ne doit pas agir ainsi car le tissu ovarien de Ratte [Armstrong 1963 (9)] renferme des quantités négligeables de glycogène. Aussi Savard et coll. 1965 (397) ont-ils montré que le 3'5'AMP n'active pas la phosphorylase du corps jaune bovin même si la biosynthèse de la progestérone est stimulée. Le métabolisme de cette hormone met en jeu un grand nombre de systèmes enzymatiques. Bryson et coll. 1963 (72) Bloch 1964 (50), 1965 (51) ont montré que les gonades femelles du fœtus humain transforment la progestérone en 20- α -hydroxyprégnène-3-one et en 16- α et 17- α -hydroxyprogestérone ; il semblerait que ces tissus possèdent des systèmes relativement actifs : 16- α et 17- α hydrolases et 20- α -hydroxystéroïde déhydrogénase, cette dernière catalysant la réaction réversible de conversion de la progestérone en 4-prégnène-20- α -ol-3-one [Wiest 1959 (454)] et de la 20- α -hydroxyprégn-4-ène-3-one en 5- α prégnène-3,20-dione [Wiest 1963 (455)]. Dans les ovaires humains normaux, cette enzyme se trouve dans les follicules [Forleo et coll. 1964 (175)], dans les thèques et les structures lutéinisées d'ovaires présentant le syndrome de Stein-Leventhal [Warren et coll. 1961 (445)].

Le passage de la progestérone à l'androstènedione nécessite une hydrogénation sur le carbone 20 [Forleo et coll. 1964 (175)]; dans les tissus ovariens humains, Roberts et coll. 1964 (370) ont mis en évidence outre un système hydroxylasique, une 17- β -hydroxystéroïde

déhydrogénase capable de convertir l'androstènedione en testostérone.

Wiest 1963 (455) comparant les métabolites obtenus après incubation d'homogénats de reins et d'ovaires de Rattes avec de la progestérone, montre que dans ce dernier tissu, le taux de réduction du noyau A est limité par l'activité d'une Δ^4 5- α -réductase: en effet il n'y a pas, comme dans les homogénats de reins, de 3-céto-5- α -prégnane. Les différents auteurs ont mis en évidence d'autres métabolites : in vitro, l'incubation de follicules de Lapines en présence de D.H.E.A. ^{14}C , progestérone ^{14}C et prégnène-ol-one ^3H , en présence de FSH, fait penser à Gospodarowicz 1964 (194) que ces deux hormones sont les précurseurs des androgènes et il met en évidence une 17- α , 20- α -dihydroxyprégnène-ol-one obtenue par l'intervention de la 20- α -hydroxylase.

L'ovaire de *Rana temporaria* peut métaboliser la testostérone en androst-4-ène-3, 17 dione, 5- α -androstane-3,17-dione et en 5- α -androstane-17- β -ol-3-one [Ozon et coll. 1964 (335)] ; l'identification du premier stéroïde permet d'affirmer qu'une 17- β -hydroxystéroïde déhydrogénase intervient ; la présence de composés saturés implique une 5- α -réductase. Cependant, ceci n'exclut pas la possibilité de la présence d'une 5- β -réductase. En effet pour Forchielli et coll. 1956 (172) cette enzyme est inhibée par la 5- α -réductase des microsomes; Short 1962 (405), comparant les stéroïdes présents dans le liquide folliculaire de Jument pendant l'oestrus et dans le corps jaune après l'ovulation, montrèrent que, étant données les quantités importantes de 20- α -hydroxyprégnène-3-one contenues dans les cellules lutéales, celles-ci doivent être riches en 20- α -réductase.

Une autre enzyme jouant un rôle important dans le métabolisme des œstrogènes est la 3- β -hydroxystéroïde déhydrogénase agissant en plusieurs points avec la Δ^4 , Δ^5 isomérase : nous avons vu qu'elle entre en jeu dans la biosynthèse de la progestérone mais elle agit aussi dans la transformation de la 17- α -hydroxyprégnène-ol-one en 17- α -hydroxyprogestérone et de la déhydroépiandrostérone en androstènedione [Smith et coll. 1961 (407), Ryan et coll. 1965 (388)].

Des enzymes plus banales interviennent aussi dans le métabolisme des stéroïdes. Puisque l'évolution de l'activité acétylcholinestérasique du tissu lutéinique se fait parallèlement à celle de l'activité cytochrome oxydase, il est vraisemblable que ces deux enzymes sont directement impliquées dans l'hormonogénèse ovarienne par la libération de groupements facteurs d'acétylation d'une part, de groupements choliniques facteurs de méthylation d'autre part.

et par les oxydations catalysées par une plus forte activité cytochrome oxydasique [Arvy et coll. 1965 (19)]. Wallace et coll. 1964 (444) montrèrent que l'incubation d'ovaires humains en présence de Δ^5 -androstène-3- β , 17- β -diol-17- α - ^3H et d'androstène-ol-one-4- ^{14}C , conduit à la formation d'esters 3-monosulfuriques de ces stéroïdes; il semblerait que les glandes endocrines puissent cliver les sulfates de stéroïdes, *in vivo*, et que la régulation de ces réactions (par des moyens encore inconnus) puisse contrôler le taux de production ou la libération d'hormones. Cette hypothèse fut en partie confirmée par Sandberg et coll. 1966 (391) démontrant dans l'ovaire humain la présence de stérol sulfatase et d'arylsulfatase hydrolysant les sulfates de déhydroisoandrostérone convertis ensuite en Δ^4 androstène-dione et en œstrone.

L'hydroxylation sur le carbone 2 semble une étape préalable nécessaire à la formation de dérivés méthoxylés [Breuer et coll. 1961 (61)]; elle doit avoir lieu dans l'ovaire, puisque Axelrod et coll. 1962 (21) ont obtenu la formation de 2-méthoxy-œstradiol 17- β par transméthylation en présence d'ATP et de ^{14}C méthyl méthionine.

Les phosphatases acide et alcaline interviendraient dans l'élaboration des hormones ovariennes; le mécanisme par lequel ces enzymes agiraient reste encore à préciser [Dimitru et coll. 1965 (135)]. Pour Luh et coll. 1964 (273), il en serait de même en ce qui concerne les oxydoréductases, cependant que pour Nielson et coll. 1965 (323), la corrélation entre l'activité des enzymes produisant le NADPH_2 et la production des stéroïdes est possible mais non absolue.

- Métabolisme de l'œstrone et de l'œstradiol.

Smith et coll. 1961 (407) ont montré que les ovaires humains préalablement traités par des hormones gonadotropes transforment 15 p. cent d'androstène-dione en œstrone et œstradiol. La progestérone peut être métabolisée, par l'intermédiaire de composés hydroxylés, en œstriol dans les ovaires de Truie [Kadis 1964 (235)]. Les cellules de la granulosa et des thèques des follicules ovariens de Jument métabolisent la testostérone en œstrone et œstradiol [Ryan et coll. 1965 (388)].

L'œstrone par hydroxylation sur le C 16 et réduction sur le C 17 peut se transformer en œstriol et épioœstriol; par réduction en 17- α -œstradiol. Cette dernière réaction est peu importante chez les humains [Harper 1965 (202)].

Nous pouvons conclure avec Cedard 1965 (89), que, malgré l'importance des découvertes réalisées dans le domaine de la biosynthèse et du métabolisme des stéroïdes ovariens ces dernières années, il existe encore de nombreux points obscurs que de nouvelles recherches contribueront à élucider.

II - METABOLISME GLUCIDIQUE.

Le cycle d'Embden-Meyerhoff fait appel à une quinzaine d'enzymes parmi lesquelles les chercheurs ont mis en évidence dans les ovaires : phosphorylase, glycérophosphate déhydrogénase, lactate déhydrogénase. Ces enzymes ont déjà fait l'objet d'une étude détaillée.

Le shunt des hexoses monophosphate comporte une glucose-6-phosphate-déhydrogénase dont la très grande positivité permet de penser que la voie des pentoses est prédominante, son intérêt étant de fournir le NADPH_2 nécessaire à la biogénèse des hormones stéroïdes [Taki et coll. 1967 (421)] ; il serait alors logique de trouver une 6-phosphogluconate déhydrogénase particulièrement intense mais cette réaction est faible [Wegmann et coll. 1963 (449)] .

Quant au cycle de l'acide citrique, il fait intervenir en particulier la pyruvate oxydase et les déshydrogénases citrique, α -cétoglutarique, succinique et malique dont nous nous sommes entretenus à plusieurs reprises. Enfin, nous citerons l'aldolase, dans le métabolisme du fructose.

Le métabolisme des sucres aminés fait appel à la β -N-acétyl-glucosaminidase ; celui des mucopolysaccharides fait intervenir l' α -mannosidase, la β -galactosidase et la β -glucuronidase [Conchie et coll. 1959 (106)] .

Nous pouvons conclure avec Wegmann et coll. 1963 (449), qu'il reste à entreprendre de nombreuses investigations surtout dans le domaine de la voie des pentoses dont l'importance dans l'ovaire est biologiquement prévisible.

III - METABOLISME PROTIDIQUE.

L'ovaire jouit d'une forte activité protéinasique [Todd et coll. 1960 (428)] due à deux composantes qui travaillent l'une en milieu alcalin, l'autre en milieu acide [Reichert 1962 (364)] . Les tissus ovariens renferment une monoamine oxydase, histaminase,

transaminases glutamique et oxaloacétique, cette dernière ayant été plus particulièrement étudiée, une leucine aminopeptidase, des dipeptidases pepsine, trypsine et cathepsine. Enfin les auteurs rapportent la présence de choline déhydrogénase, déoxy CMP déaminase, phosphamidase et d'une γ -glutamyl synthéase.

Les nucléotidases et l'adénosine triphosphatase participent au métabolisme des acides nucléiques et des nucléotides.

Moog 1946 (301) discutant le catabolisme des substances protéiques a montré qu'il y avait une corrélation entre la synthèse des protéines et la présence de phosphatases.

IV - METABOLISME LIPIDIQUE.

Il est loin d'être négligeable étant données les enzymes qui s'y rattachent et que nous avons déjà mentionnées aux paragraphes précédents. Nous citerons une lipase, des cholinestérases, des cholestérol-estérases, des aliestérases et arylestérases ; le pourcentage de ces ferments dans l'ovaire varie comme nous l'avons vu, avec le cycle mais aussi avec l'âge et l'espèce ; une arylsulfatase dont l'étude n'a été entreprise que depuis ces dernières années. L'activité de la phosphatase alcaline est très importante par rapport à celle de la phosphatase acide ; Corner 1944 (107), 1948 (108) a mis l'accent sur le rôle de ces enzymes dans le métabolisme des phospholipides.

CHAPITRE III

VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES

Nous allons considérer tout d'abord, les variations dues au cycle sexuel, puis les variations survenues au cours de la ménopause et enfin l'influence de la grossesse et de la lactation sur l'activité des enzymes ovariennes.

I - VARIATIONS ENZYMATIQUES ET CYCLE OVARIEN.

Les fonctions sexuelles ont une certaine périodicité commençant dès le début de la puberté, elles se poursuivent jusqu'à la ménopause. Certains animaux ont un seul cycle par année ; chez d'autres ils sont plus courts variant de quatre à six jours chez la Ratte et la Souris à trente six jours chez le Chimpanzé. Dans chacun nous distinguerons alors : un proœstrus, un œstrus, un métaœstrus et un dioœstrus. Nous allons envisager les variations subies par les enzymes ovariennes au cours de ces différentes phases.

Chez la Ratte, l'activité malate déhydrogénasique, faible pendant le métaœstrus augmente un proœstrus, œstrus et dioœstrus; quant à l'activité lactate déhydrogénasique, elle est maximum en proœstrus [Wegmann et coll. 1963 (449), Scully et coll. 1964 (402)]. Les taux d'isocitrate déhydrogénase de glucose-6-phosphate déhydrogénase sont très élevés pendant le dioœstrus [Wegmann et coll. 1963 (449)]. Chez la Femme, cette dernière enzyme possède une activité importante dans le corps jaune jusqu'au 22e jour du cycle, puis elle diminue [Deane 1952 (118)].

Le taux global de la 3- β -hydroxystéroïde déhydrogénase de l'ovaire de Ratte est plus élevé pendant le métaœstrus et le dioœstrus que pendant l'œstrus [Baldratti et coll. 1967 (26)]; c'est ce que nous avons vérifié quantitativement (Chap. IV). Cette variation est parallèle à celle du taux de l'enzyme dans le corps jaune comme l'ont montré par des techniques histo-enzymologiques Arvy 1963 (16) et Pupkin et coll. 1966 (359).

L'activité 20- α -hydroxystéroïde déhydrogénasique, chez la Ratte, est élevée pendant le proœstrus et l'œstrus [Wilcox 1963 (459)] mais elle ne se manifeste pas dans le corps jaune nouvellement formé [Wiest 1959 (454), Balogh et coll. 1966 (30), Pupkin et coll. 1966 (359)].

Biddulph et coll. 1946 (46) ont montré des variations dans la concentration de la succinate déhydrogénase durant les différentes phases du cycle ; pendant le métaœstrus, cette activité augmente dans les cellules de la granulosa [Malone 1957 (277)]. Pour Ikonen et coll. 1961 (215) ces variations ne sont pas significatives.

Dans l'ovaire de Femme, il existe une corrélation étroite entre l'augmentation de l'activité cytochrome oxydasique et celle de l'activité cellulaire [De Cecco et coll. 1961 (123)]. Quant à la peroxydase elle n'est décelable dans le corps jaune de Brebis qu'entre les 7e et 12e jours [Arvy et coll. 1964 (18)].

Chez la Ratte, il n'y a pas de variations significatives dans la répartition des estérases selon les différentes phases du cycle [Hunter et coll. 1957 (213)]. Chez la Brebis, Arvy et coll. 1965 (19), montrèrent que, dans le corps jaune l'acétylnaphtol-estérase subit une évolution cyclique : faible dans le corps jaune de deux jours, elle atteint son maximum dans ceux de trois à quatorze jours, puis elle diminue.

L'activité lipasique des ovaires de Rattes augmente progressivement du proœstrus au dioœstrus [Pulle 1960 (358)] tout en étant plus nette là où les lipides sont en quantité moindre [Bronzetti et coll. 1963 (64), (65)]. L'ovule des follicules primaires est dépourvu de lipase, cependant que certains follicules secondaires et tertiaires en renferment de faibles quantités [Ishida 1954 (216)]. L'activité lipasique de l'appareil lutéo-folliculaire de Femme apparaît et s'accroît avec l'évolution du follicule aussi bien dans la thèque interne que dans la granulosa [Bontke 1960 (52)]. Dans le corps jaune en voie de régression, la lipase intracytoplasmique diminue progressivement [Mega 1961 (291), Szijarto et coll. 1961 (415)].

Grieten 1955 (198) a étudié les modifications de l'activité cholinestérasique au cours de l'évolution des follicules : les cellules folliculaires et l'ovule sont toujours négatifs mais après expulsion de ce dernier, les cellules les plus internes deviennent faiblement positives, cette positivité s'accroissant au cours de la transformation du follicule en corps jaune. L'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase subissent une évolution cyclique dans l'ovaire de Brebis ; l'activité de la première est particulièrement forte dans les corps jaunes parvenus au milieu de leur évolution [Arvy et coll. 1965 (19)].

Chez la Ratte il n'y a pas de modifications significatives dans la répartition de la phosphatase alcaline [Sani et coll. 1951 (392), 1952 (393), Bulmer 1964 (75)]; le taux global de cette enzyme ne paraît pas en rapport avec l'activité génitale [Ford et coll. 1955 (173)]. Cependant dans l'endothélium des capillaires ovariens, l'activité phosphatasique se modifie au fur et à mesure que la lutéinisation progresse [Malone 1960 (278)]. Pour Milio 1960 (298), le taux de la phosphatase du complexe lutéo-folliculaire de la Femme, ne semble pas influencé tout au long du cycle mais sa répartition varie dans les follicules et le corps jaune comme l'avaient déjà montré White et coll. 1951 (452). Pour Ober 1950 (329), elle augmente dans le corps jaune en régression. Chez la Brebis, au niveau des cellules de la granulosa [Hadek 1958 (199)] chez la Chèvre [Finnocchio et coll. 1956 (158), 1958 (159)] ainsi que dans l'ovaire de Mouflonne [Cheli 1957 (92)], de Vache [Moss et coll. 1953 (308), Sykes et coll. 1955 (414)] et de Truie [Good et coll. 1965 (192)], le taux de la phosphatase alcaline suit les variations du cycle.

Pendant la maturation folliculaire, chez la Ratte, l'activité de la phosphatase acide augmente dans les cellules des parois des follicules ainsi que dans le corps jaune au fur et à mesure de son vieillissement ; dans ce cas, l'enzyme est présente dans les macrophages qui envahissent les structures en dégénérescence. Ces résultats sont compatibles avec le fait que l'autolyse physiologique est due à un groupe d'enzymes hydrolytiques (parmi lesquelles la phosphatase acide) associées à des granulations spéciales appelées aujourd'hui lysosomes [Gould et coll. 1961 (195)].

Chez la Femme, la 5'-nucléotidase diminue puis disparaît au cours de la maturation des follicules [Mc Kay et coll. 1961 (286)].

L'activité des protéases ne change pas avec le cycle œstral, chez la Ratte [Royal 1965 (374)]; il n'en est pas de même de l'adénosine triphosphatase du corps jaune qui est plus élevée en période de dioestrus qu'en période d'œstrus [Biddulph et coll. 1946 (46)]. Quant à l'aldolase, elle augmente dans les ovaires de Femme lors de la maturation, surtout au niveau des follicules et du corps jaune [Onnis et coll. 1962 (332) , Careddu 1963 (84)].

II - VARIATIONS ENZYMATIQUES ET MENOPAUSE.

Les techniques d'exploration histochimique des ovaires après la ménopause indiquent que certaines enzymes voient leur activité persister longtemps après que la fonction folliculaire ait cessé. C'est le cas de la leucine aminopeptidase, de la NAD diaphorase et de la 3- β -hydroxystéroïde déhydrogénase. Novak et coll. 1965 (327) ont pu déterminer que les éléments ovariens où se manifestent ces enzymes sont les cellules du hile et du stroma.

Certains auteurs ont mis en évidence une baisse très nette de cette activité en rapport avec l'arrêt de la fonction endocrine de l'ovaire ; tel est le cas de la lactate déhydrogénase, de l'aspartate amino transférase [Lo Stumbo et coll. 1960 (272)], de la lipase [Mega 1961 (291)], de la β -glucuronidase [Fishman et coll. 1947 (162)].

Pour Careddu 1963 (84), le taux de l'aldolase diminue considérablement tandis que Lo Stumbo 1960 (271) décèle une activité deux fois plus élevée que pendant la puberté.

III - VARIATIONS ENZYMATIQUES PENDANT LA GESTATION ET LA LACTATION.

Toute gestation interrompt le cycle normal et impose à l'ovaire de nouvelles sécrétions qui lui sont particulières tant par leur nature que par leur durée. Le métabolisme ovarien va donc subir des modifications qui se prolongeront pendant la lactation, il est logique que le taux et la localisation des enzymes varient

Dans le corps jaune de Ratte, certaines augmenteraient pendant la première moitié de la gestation, puis ensuite diminueraient ; c'est le cas de la malate déhydrogénase, de la cytochrome oxydase [Mc Shan et coll. 1948 (288)], de la 3- β -hydroxystéroïde déhydrogénase [Deane 1952 (118)], de la 20- α -hydroxystéroïde

déhydrogénase [Balogh 1964 (29)]. Considérant la totalité du tissu ovarien, Meyer et coll. 1945 (296), 1947 (297), ont montré que la succinate déhydrogénase augmente de manière continue.

Chez la Femme, les activités lactate et glucose-6-phosphate déhydrogénasiques s'accroissent considérablement [Lo Stumbo 1960 (271), Deane et coll. 1962 (120)]. Il est à souligner que le comportement des enzymes varie d'une espèce à l'autre : ainsi chez le Cobaye femelle gravis, le taux de lactate déhydrogénase est plus faible que chez l'animal impubère alors qu'il est très légèrement supérieur à celui que l'on trouve chez l'adulte [Lo Stumbo 1960 (271)]. Quant à l'activité cytochrome oxydasique du corps jaune de Brebis, elle est égale à l'activité maximale du corps jaune cyclique puis elle diminue à partir du 100^e jour [Arvy et coll. 1964 (18)].

Chez la Lapine, c'est au cours de la gestation et au niveau des cellules lutéiniques que l'activité amylophosphorylasique est la plus forte [Takeuki 1958 (417)]. L'activité glutamique oxaloacétique transaminasique s'accroît considérablement chez la Femme, pendant la grossesse ; il en est de même chez le Cobaye, en ce qui concerne la G.P.T. et la G.O.T. ; mais la valeur obtenue pour cette dernière est à peu près identique à celle du tissu ovarien avant la puberté. Alors que dans l'ovaire de Ratte, la G.P.T. diminue continuellement [De Jorio et coll. 1965 (126)], la G.O.T. présente une réaction intense le 17^e jour pour décroître ensuite progressivement [Brizzi et coll. 1965 (63)].

Dans le corps jaune de Brebis, les activités butyryl et acétyl cholinestérasiques sont plus élevées que dans le corps jaune cyclique alors que l'acétylnaphtolestérase est intense au milieu de la gestation [Arvy et coll. 1965 (19)]. Bontke 1960 (52) pense que l'activité lipasique disparaît de l'ovaire de Femme, tandis que Mega 1961 (291) a noté sa présence dans le corps jaune de gestation. Pour Bulmer 1964 (75), considérant l'ensemble du tissu ovarien de Ratte, il n'y a pas de variations significatives de la phosphatase alcaline pendant la gestation, sauf, peut-être dans les derniers jours, où une faible réaction peut apparaître dans les macrophages répandus dans le stroma ovarien. Chez la Lapine cette enzyme diminue très nettement au milieu de la gestation dans les corps jaunes et les follicules tertiaires pour subir ensuite une augmentation [Tako 1960 (422)]. Il n'y a pas de variations significatives dans l'ovaire humain [Milio 1960 (298)]. Chez la Lapine [Arvy 1959 (14)], la phosphatase acide s'élève dans le corps jaune plus intensément que chez la Ratte [Stafford et coll. 1947 (409)].

En ce qui concerne la β -glucuronidase, alors qu'elle est pratiquement absente des corps jaunes cycliques, les corps jaunes gravidiques présentent une activité importante, maximum au milieu de la gestation ; à ce moment, la réaction des autres tissus ovariens est négative [Bulmer 1964 (75)].

Reichert 1962 (364), sur des extraits salins d'ovaires de Rattes en œstrus et en dioestrus, a trouvé un taux élevé de protéinase active à pH 4,0 et 8,0 alors qu'il est relativement bas pendant la gestation.

Lo Stumbo (271) déterminant quantitativement le taux de l'aldolase chez les Cobayes impubères, adultes et gravides, note une nette augmentation dans ce dernier cas. Dans les ovaires de Femme l'activité aldolasique est quatre fois plus forte que dans l'ovaire normal [Lo Stumbo et coll. 1960 (272)] tandis que dans l'ovaire de Ratte, elle diminue du 8e au 20e jour [De Jorio et coll. 1965 (125)] ; enfin le taux de la γ -glutamyl transpeptidase est plus important chez le Cobaye en période de gestation que chez l'animal pubère non gravide [Jonek et coll. 1965 (224)].

Quelles modifications allons-nous observer dans le corps jaune de lactation ? Chez la Ratte, nous avons pu noter une augmentation qui est importante en ce qui concerne les activités malate déhydrogénasique et cytochrome oxydasique [Mc Shan et coll. 1948 (288)], faible en ce qui concerne la phosphatase acide [Stafford et coll. 1947 (409)]. La phosphatase alcaline et l'adénosine triphosphatase augmentent jusqu'au 13 e jour puis diminuent [Stafford et coll. 1947 (409), Biddulph et coll. 1946 (46)]. Il n'y a plus de β -glucuronidase dans les corps jaunes de lactation [Bulmer 1964 (75)].

CHAPITRE IV

VARIATIONS PATHOLOGIQUES ET EXPERIMENTALES

Nous envisagerons successivement les effets des avitaminoses, des tumeurs bénignes et malignes, de l'hypophysectomie, de l'action des rayons X, de l'administration de gonadotrophines, d'œstrogènes, d'androgènes, de progestérone et de drogues diverses.

I - AVITAMINOSES.

Les troubles carentiels se répercutent au niveau des enzymes ovariennes. Ainsi, une carence en vitamine B₆ abaisse de 50 p. cent le taux de la transaminase glutamique oxaloacétique chez la Ratte [Eckstein 1963 (142)]; d'autre part, la phosphatase alcaline diminue considérablement chez le Cobaye carencé en acide ascorbique [Deb et coll. 1957 (121), Banerjee et coll. 1963 (31)] tandis qu'elle augmente dans les ovaires de Ratte pubère soumise à un régime dépourvu d'acide pantothénique [Mukerjee et coll. 1956 (310)]; cette enzyme disparaît totalement des tissus ovariens de Souris anémique [Borghese 1957 (54)]. L'étude des effets d'une avitaminose E sur l'ovaire de Ratte pubère a montré une augmentation de l'activité arylestérasique et une diminution de l'activité β -glucuronidasique; la phosphatase acide ne semble pas varier [Arata et coll. 1962 (5), (6), (7)].

II - TUMEURS.

Dans les cas de tumeurs malignes, chez la Femme, le comportement des enzymes ovariennes est modifié: ainsi l'activité lipasique est nulle [Szijarto et coll. 1961 (415)], tandis que la phosphatase alcaline est très élevée [Moschino et coll. 1952 (307)]. Cependant pour Genesi 1953 (182), l'intensité de cette

réaction n'est pas constante : les tissus néoplasiques ovariens solides ou enkystés sont parfois faiblement, parfois intensément positifs. Fishman et coll. 1947 (162), 1950 (165) ont constaté que la β -glucuronidase augmente considérablement mais Lorincz et coll. 1951 (270) n'ont pas observé de variations. Quant à l'activité déoxycytidylate déaminasique, elle s'accroît progressivement, proportionnellement à la malignité de la tumeur [Palmieri et coll. 1964 (337)].

Dans les cas des tumeurs bénignes, nous notons une diminution des activités lactate déhydrogénasique, 3- β -hydroxystéroïde déhydrogénasique, transaminasiques [Lo Stumbo et coll. 1960 (272), Axelrod et coll. 1961 (20), 1962 (21), 1965 (22), Mahesh et coll. 1962 (275), Kase 1964 (242), Janata et coll. 1965 (219)] ainsi qu'une augmentation du taux de l'aldolase dans le liquide folliculaire [Chieffi et coll. 1960 (96)] et dans tout le tissu tumoral ovarien [Careddu 1963 (84)].

III - ACTION DES RAYONS X.

Dès 1940 Dale (111) avait montré sur la carboxypeptidase cristallisée et sur la polyphénoloxydase partiellement purifiée une inactivation par les rayons X ; pour une dose donnée de radiations, la diminution de l'activité est fonction de la concentration de l'enzyme.

Chez la Lapine, l'activité succinate déhydrogénasique diminue dans les parties endommagées du tissu [Foraker et coll. 1953 (169), 1955 (170)]. Macarini et coll. 1959 (274) confirmèrent les travaux précédents et précisèrent les variations du taux de l'enzyme dans les différents tissus ovariens en rapport avec l'intensité des radiations. En ce qui concerne la phosphatase alcaline [Passeri et coll. 1957 (339)] observent une importante augmentation due à une tendance à la mitose cellulaire.

IV - HYPOPHYSECTOMIE.

Le développement et le fonctionnement de l'ovaire dépendent en grande partie de l'hypophyse : celle-ci par ses gonadotrophines développe et maintient la structure et la fonction du tissu ovarien aussi bien dans les conditions normales que pathologiques. En général l'ablation de l'hypophyse provoque une diminution réversible des activités enzymatiques ; c'est le cas des activités 3- β -hydroxystéroïde déhydrogénasique [Levy et coll. 1959 (265)], phosphatasique alcaline [Dempsey 1948 (130), Dempsey et coll. 1949 (131)], estérasiques [Huggins et coll. 1948 (212)] ou protéinasique [Reichert 1962 (364)]. Il faut préciser que ces deux

premières enzymes ne semblent pas varier au niveau du corps jaune [Levy et coll. 1959 (265), Dempsey et coll. 1949 (131)]; le taux de la phosphatase alcaline demeure constant si l'opération est pratiquée chez une femelle gestante [Talbert et coll. 1948 (424)].

V - ACTION DES GONADOTROPHINES.

Pour Simpson et coll. 1953 (406), l'administration de FSH active tous les processus en rapport avec le développement des ovocytes chez le Singe rhésus impubère. Courrier 1965 (110) aboutit aux mêmes résultats chez des Rattes hypophysectomisées; il note d'autre part une augmentation du poids des ovaires avec absence de corps jaune; il en est de même sur des animaux impubères [Zarrow et coll. 1966 (469)]. Chez des Rattes adultes, la FSH accélère la maturation des ovules ainsi que la LH dont l'action est cinq fois plus forte [Docke et coll. 1965 (137)]. Ponse 1966 (351) a montré que la LH a deux points d'attaque, les théques ou l'interstitielle ovarienne d'une part, la granulosa préparée par la FSH d'autre part. Il faut ajouter que ces gonadotrophines activent la synthèse des protéines et des acides nucléiques in vitro et in vivo [Callantine et coll. 1965 (82), Morton et coll. 1966 (305)]. Nous ne pouvons aborder l'action de ces hormones sur les enzymes des tissus ovariens sans citer le travail d'Eik-Nes 1964 (146) traitant de leur action sur la stéroïdogénèse des glandes génitales mâles et femelles.

Dès 1949 Nalbandov et coll. (315) avaient montré que la FSH affecte quelques enzymes ou systèmes d'enzymes rentrant en jeu dans le mécanisme oxydatif du tissu ovarien; de plus l'addition de LH, in vitro, à des ovaires de Lapine [Gorski et coll. 1966 (193)] et in vivo, à des ovaires de Femme [Kaiser 1964 (237)] stimule la synthèse des stéroïdes. FSH et GH augmenteraient la production de testostérone et de 17- α -œstradiol probablement par activation de la 17- α -hydroxylase et de la 3- β -hydroxystéroïde déhydrogénase [Gospodarowicz 1964 (194)]. L'action des gonadotrophines sur ces enzymes est réelle: Taylor 1961 (427) avait observé dans l'ovaire de Rattes immatures traitées avec la gonadotrophine chorionique une augmentation de la 3- β -hydroxystéroïde déhydrogénase, ce qui fut confirmé par Botte et coll. 1962 (56) qui montrèrent de plus, que parallèlement, le cholestérol diminue puis disparaît, fait qui confirme l'hypothèse de Rennels 1951 (367) pour qui le cholestérol et son ester, sous l'action de la gonadotrophine, sont utilisés pour la production des hormones sexuelles. Cet accroissement du taux de l'enzyme suit l'augmentation du poids du tissu lutéal, mais la réponse de l'ovaire à cette stimulation varie selon l'espèce [Rubin et coll. 1965 (379), (380)]. La 20- α -hydroxystéroïde déhydrogénase est activée par injection simultanée de FSH et de LH [Wiest et coll. 1963 (456)], d'HCG, de PMS

et d'HCG [Balogh et coll. 1966 (30), Kidwell et coll. 1966 (246)].

Le processus d'activation des deshydrogénases du cycle de Krebs présenté par Eckstein et coll. 1963 (143) fut confirmé par Channing et coll. 1966 (91) qui montrèrent que la LH stimule *in vitro* l'utilisation des hexoses et la production d'acide lactique. L'activité lactate déhydrogénasique augmente considérablement dans le tissu ovarien de Rattes pubères après injection de gonadotrophine chorionique [Balestri 1961 (27)]; il n'en est pas de même chez des Lapines impubères après injection de FSH ou de LH [Chieffi et coll. 1960 (97)]. En ce qui concerne la succinate déhydrogénase, elle subit une élévation importante après gonadotrophines [Biddulph et coll. 1959 (47), Chieffi et coll. 1960 (97)]. FSH, LH et HCG injectées simultanément à des Rattes impubères hypophysectomisées leur confèrent un taux d'activité glucose-6-phosphate déhydrogénasique supérieur à celui des animaux témoins [Wiest et coll. 1963 (456), Balogh et coll. 1966 (30)]. Des expériences conduites sur des Rattes impubères mais intactes ont montré que LH et HCG activent cette enzyme ainsi que le métabolisme du glucose-6-phosphate par le shunt des pentoses [Mc Kerns 1965 (287), Kidwell et coll. 1966 (246)]. *In vitro*, l'addition d'extrait brut d'antéopphyse, de gonadotrophine chorionique et d'hormone de croissance à des coupes de corps jaune bovin, augmente le taux de la phosphorylase active [Williams et coll. 1961 (462)]; il en est de même de la LH administrée *in vivo* à des Rattes en pseudo gestation [Stansfield et coll. 1965 (410)] et ajoutée *in vitro* à des coupes de tissu lutéal de Vaches gravides [Marsh et coll. 1964 (280)]. Bruzzzone et coll. 1965 (71) montrèrent que l'injection de gonadotrophine sérique de Jument gravide ne modifie pas le taux de la phosphorylase des ovaires de Rattes adultes alors que dans l'ovaire de Souris, il augmente de 100 p. cent. La stimulation de cette enzyme par la LH ne semble pas être en relation avec la stéroïdogénèse; en effet, le taux de glycogène présent dans l'ovaire lutéinisé de la Ratte n'est pas suffisant pour produire assez de glucose-6-phosphate afin d'augmenter le taux de NADPH_2 et d'accélérer ainsi la biosynthèse des stéroïdes [Stansfield et coll. 1965 (410), Channing et coll. 1966 (91)].

La GOT étant la plus sensible aux influences hormonales et donnant des variations constantes et univoques [Bartelli et coll. 1960 (37)] sera la seule transaminase considérée. Tandis que chez la Lapine, les gonadotrophines provoquent une chute importante de l'activité enzymatique [Chieffi et coll. 1960 (97)], chez la Ratte, Eckstein et coll. 1963 (145) obtiennent une nette augmentation en rapport avec celle du poids des ovaires; il est à noter que la très grande sensibilité de cet organe aux gonadotrophines

diminue la possibilité qu'a la PMS de stimuler la GOT [Eckstein 1963 (142)], de plus l'ovaire de Ratte, contiendrait au moins deux isoenzymes de la GOT. La gonadotrophine sérique activerait probablement cette transaminase par libération d'une des deux formes d'enzymes des mitochondries dans la fraction soluble [Eckstein et coll. 1965 (144)].

Tandis que la lipase [Chieffi et coll. 1960 (97)], l'ATPase [Biddulph et coll. 1959 (47)] et les aryl et stéroïde sulfatases [Sandberg et coll. 1966 (391)] ne semblent être influencées par les gonadotrophines, il n'en n'est pas de même de la phosphatase alcaline [Pescetto 1951 (342)] qui augmente considérablement chez la Ratte [Turchetti et coll. 1957 (431)] et chez la Lapine [Chieffi et coll. 1960 (97)]. En ce qui concerne les enzymes protéolytiques après traitement de Rattes pubères avec 200 µg de FSH et 20 U d'HCG, le taux de la protéinase active à pH acide diminue tandis que celui de la protéinase active à pH alcalin augmente [Reichert 1962 (364)]. Les hormones hypophysaires n'ont aucun effet sur l'endopeptidase ovarienne mais celle du corps jaune est activée par la LH et inhibée par la FSH [Jung 1964 (227)]. Ces gonadotrophines provoquent une élévation importante de l'activité aldolasique chez la Lapine impubère [Chieffi et coll. 1960 (97)]; chez la Ratte, l'administration de FSH ne produit pas de variation de cette enzyme, tandis que l'adjonction de thyroxine donne une nette augmentation; la LH diminue le taux de l'aldolase, son action n'est modifiée ni par la thyroxine ni par les antithyroïdiens [Bartelli et coll. 1960 (37)]. L'anhydrase carbonique ne semble pas être influencée par ces hormones [Chieffi et coll. 1960 (97)].

VI - ACTION DES OESTROGENES.

Notons pour mémoire que, dès 1956, Beyler et coll. (45) avaient montré sur des Rats mâles, que l'administration de dipalmitate de diétylstilbœstrol et d'œstradiol 17- β , produisait une atrophie des organes sexuels et une augmentation de l'activité 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductasique des homogénats testiculaires. Les œstrogènes n'ont pas d'action sur cette stéroïde déhydrogénase de Rattes immatures ou en pseudo gestation; ajoutés in vitro à des homogénats de tissus ovariens, ils ne stimulent pas l'activité 20- α -hydroxystéroïde déhydrogénasique [Wiest et coll. 1963 (456), (458)], cependant, la lactate déhydrogénase diminue considérablement [Balestri 1961 (27)]. Après injection de dipropionate d'œstradiol à des Rattes pubères, Wegmann et coll. 1963 (449) ont montré que cette hormone est sans action sur les déhydrogénases 6-phosphogluconique, glucose-6-phosphate, 3-phosphoglyceraldéhyde et malique: elle active l'isocitrate déhydrogénase

et diminue l'activité des déhydrogénases succinique et lactique. Chez le Cobaye, la glucose-6-phosphate déhydrogénase disparaît totalement tandis que le taux des déhydrogénases lactique, succinique, malique et de la cytochrome réductase reste constant [Zerbian 1966 (471)]. A la dose de $100\mu\text{g}$ par jour, l'œstradiol ne modifie pas le taux de phosphorylase active de l'ovaire de Souris [Bruzzzone et coll. 1962 (67), (70)] alors qu'à la dose de $10\mu\text{g}$, il le diminue de 40 p. cent [Bruzzzone et coll. 1962 (68), (69)]: l'activité enzymatique du tissu n'est donc pas toujours apparemment sous la dépendance hormonale [Bruzzzone et coll. 1965 (71)]. Chez la Ratte, après traitement au benzoate d'éthinyl-œstradiol, Puchol et coll. 1959 (354), notèrent une augmentation de 30 p. cent de l'activité transaminasique glutamique oxaloacétique alors que $5\mu\text{g}$ d'œstrone n'ont aucun effet sur cette enzyme [Eckstein et coll. 1963 (145)]. Chez le Cobaye traité au dipropionate d'œstradiol, les estérases augmentent dans la thèque interne et diminuent considérablement dans les autres tissus folliculaires [Zerbian 1966 (471)] alors que les ovaires de Lapine ne présentent que des modifications douteuses du réseau nerveux cholinestérasique [Gastaldi et coll. 1961 (181)]. D'autre part, après administration d'œstrogènes, l'activité de la phosphatase alcaline, augmente chez la Ratte [Sani et coll. 1951 (392)], tandis que chez le Cobaye, cette enzyme ne varie pas [Zerbian 1966 (471)].

VII - ACTION DES ANDROGENES.

Après administration à des Lapines et à des Rattes d'un anabolisant protéique du type stéroïde androgène, les activités succinate déhydrogénasique, lipasique et phosphatasique acide ne sont pas modifiées, tandis que la cholinestérase et la phosphatase alcaline diminuent considérablement [Bertolotti et coll. 1962 (43)]: en ce qui concerne cette dernière enzyme, Kar 1950 (238) a montré que chez le Pigeon, l'injection de propionate de testostérone provoque une mobilisation de l'enzyme dans les thèques alors qu'elle est pratiquement absente de la granulosa. Le taux des transaminases de l'ovaire de Ratte et de la phosphorylase de l'ovaire de Souris reste constant [Puchol et coll. 1961 (356), Eckstein et coll. 1963 (145)].

VIII - ACTION DE LA PROGESTERONE ET DE SES DERIVES.

La progestérone n'a aucune action sur les deshydrogénases glucose-6-phosphate, isocitrique et malique ainsi que sur la GOT, chez la Ratte; les activités lactate et 3-phosphogluconate déhydrogénasiques diminuent tandis que le taux de la succinate déhydrogénase augmente [Wegmann et coll. 1963 (449), Eckstein et

coll. 1963 (143)]. Lipase, estérase non spécifique et phosphatase alcaline diminuent dans les ovaires de Rattes traitées par la 6- α -méthyl-17- α -acétoxyprogestérone à la dose de 100 μ g par jour, pendant sept jours [Turolla 1960 (433)]; il en est de même, en ce qui concerne cette dernière enzyme, chez le Cobaye et le Pigeon [Coletta et coll. 1963 (102), Kar 1950 (239)].

IX - ACTION DE DROGUES DIVERSES.

Quelques chercheurs ont étudié l'action de substances variées sur les enzymes ovariennes. Ainsi une seule injection sous-cutanée de chlorure de cadmium provoque une inhibition marquée de la succinate déhydrogénase des ovaires de Rattes [Das et coll. 1961 (115)]. La β -glucuronidase n'est pas sensible aux substances glucuronidogéniques telles le menthol et le bornéol [Fishman 1940 (160)] alors que les activités transaminasiques sont modifiées par les glucocorticoïdes [Puchol et coll. 1959 (353)]; quant à la catalase, elle ne subit qu'une faible inhibition au cours de l'administration de médicaments antituberculeux à des doses thérapeutiques [Nowkunski et coll. 1963 (328)].



DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES EXPERIMENTALES

CHAPITRE PREMIER

GENERALITES

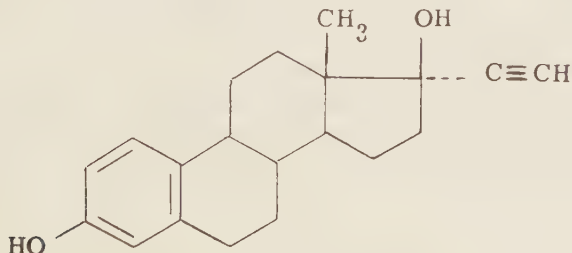
I - SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES EXPERIMENTEES .

Actuellement les produits contraceptifs actifs par voie orale renferment pratiquement tous un œstrogène dérivé de l'œstradiol naturel et un progestatif dérivé synthétique de la testostérone ou de la progestérone. Cependant nous savons depuis de nombreuses années que les œstrogènes peuvent à eux seuls inhiber la fonction ovarienne et qu'il en est de même de certains progestatifs utilisés à dose suffisante [Pincus et coll. 1962 (348) , Nevinny - Stickel 1964 (321)] . Nous ne parlerons pas ici des différents œstrogènes, progestogènes et de leurs associations qui ont fait l'objet de nombreuses publications parmi lesquelles nous citerons celle de Chevallier en 1967 (94); nous étudierons seulement l'éthinyl-œstradiol et le lynestrénol, substances que nous avons expérimentées .

- Ethinyl - œstradiol .

L'éthinyl-œstradiol constitue encore à présent, l'œstrogène synthétique le plus proche de l'hormone folliculaire qui soit actif per os.

Du point de vue chimique, c'est le 17- α -éthinyl- 1,3,5-estratriène-3,17- β - diol .



Une seule propriété physique a retenu notre attention , c'est l'insolubilité de ce produit dans l'eau qui nous a conduit à l'administrer sous forme de suspension .

Du point de vue pharmacodynamique, nous relèverons avec Hazard et coll. 1963 (205) une action corticotrope ainsi qu'une action antigonadotrope, cette dernière nous permettant d'expliquer le blocage de l'ovulation .

L'inhibition de la fonction ovarienne, chez les rongeurs par les œstrogènes est connue depuis les travaux de Pincus et coll. 1936 (349). Chez la Femme l'éthinyl-œstradiol s'est avéré être un des œstrogènes les plus puissants quant à son action anti-ovulatoire [Brown et coll. 1948 (66), Suchowsky 1962 (411), Desaulles et coll. 1964 (132)] bien que Mears 1963 (290), Pincus 1965 (347) et Netter et coll. 1966 (319) semblent accorder leur préférence à son 3-méthyl éther. Cet effet antiovulatoire fut confirmé chez la Ratte par Watnick et coll. 1964 (447) et expliqué par Greenwald 1964 (197) : les oestrogènes interféreraient avec le développement folliculaire tôt dans le cycle, ceci pouvant être dû soit à la suppression de la libération de FSH et de LH ou de FSH seule : ces deux gonadotrophines étant indispensables à la maturation des follicules. Docke et coll. 1965 (138), De Brux 1966 (122) confirmèrent que l'hypophyse est le siège principal de l'action des œstrogènes , et, reprenant les travaux de Barraclough 1962 (35) qui avait situé le mécanisme de l'induction de l'ovulation dans le noyau préoptique de l'hypothalamus antérieur, ils montrèrent que celui-ci joue un rôle fondamental dans le déclenchement de l'ovulation. Ils se produirait un effet " feed-back " positif se manifestant par l'intermédiaire des centres qui commandent la décharge de LH et un effet " feed-back " négatif se traduisant par l'impossibilité pour l'hypophyse de stocker assez de LH pour pouvoir libérer une brusque décharge ovulatoire [Mauvais-Jarvis 1967 (282)]. Néanmoins, si les œstrogènes sont administrés à forte dose, ils inhibent la totalité des commandes hypothalamiques de l'activité gonadotrope [Desaulles et coll. 1964 (132), Saunders 1964 (395), Rudel et coll. 1966 (382)].

Il faut ajouter que l'éthinyl-œstradiol est non seulement capable de supprimer l'ovulation mais encore il peut inhiber la fonction œstrogéno-sécrétrice de l'ovaire comme l'ont montré Netter et coll. 1966 (318) .

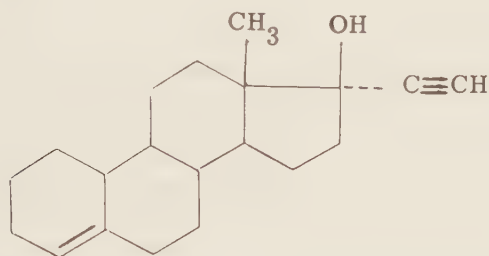
En thérapeutique, l'éthinyl-œstradiol n'est pas utilisé seul comme antiovulatoire mais, à faible dose en association avec des progestatifs, potentialisant ainsi leur action. Nous citerons les

associations avec la chlormadinone, le noréthynodrel, la noréthistérone ; l'étude clinique de ces produits a fait l'objet de nombreux travaux parmi lesquels ceux de Mears 1962 (289), de Ravina en 1966 (363) et ceux de Mauvais-Jarvis et coll. 1966 (284).

- Lynestrénol .

De nombreux progestatifs ont été proposés en thérapeutique ces dernières années : les premiers sont des progestatifs très voisins chimiquement de la progestérone, les seconds dits progestatifs de synthèse sont en réalité des stéroïdes qui ne possèdent plus de substituant méthyl sur le carbone 10, d'où leur nom de 19-nor-stéroïdes. Actifs par voie buccale, ils exercent des propriétés pharmacodynamiques plus ou moins complexes : essentiellement progestatifs mais éventuellement œstrogéniques, virilisants ou anabolisants suivant les cas. L'un des produits les plus récents est le lynestrénol qui a fait l'objet d'une partie importante de notre travail.

C'est en 1959 que Winter et coll. (463) l'ont obtenu à partir de la molécule de progestérone. Du point de vue chimique, c'est le 17- α -éthynyl-17- β -hydroxy-estrène-4. Il faut souligner que, lynestrénol et éthynyl-œstradiol possèdent en commun le groupe-ment 17- α -éthynyl, 17- β -hydroxy.



Des propriétés physiques nous ne retiendrons également que son insolubilité dans l'eau c'est pourquoi nous l'avons administré sous forme de suspension.

L'action pharmacodynamique a été étudiée par Overbeek et coll. 1962 (333), 1964 (334), Fanard 1965 (152).

- Effet progestatif : administré par voie orale, le lynestrénol détermine une action progestative sur la muqueuse des cornes utérines, sensiblement identique à celle de la progestérone administrée par voie parentérale (Test de Clauberg et Corner). Toutefois aucun effet ne fut observé dans le test du déciduome chez la Souris, ainsi que dans le maintien de la gestation chez la Ratte.

- Effet œstrogénique : (mesuré par l'étude des frottis vaginaux chez la Ratte castrée et par l'activité utérotripe selon Edgren 1960 (147) sur la Ratte impubère). Le lynestrénol exerce une activité œstrogénique certaine [Tausk 1966 (426)] évaluée à 1,5 p. cent de celle de l'éthinyl-œstradiol.

- Effet androgénique : [étudié par la méthode de Hershberger et coll. 1953 (207)]. L'activité androgénique par voie buccale atteint 1/3 à 1/4 de celle de la méthyl-testostérone.

- Effet antigonadotrope : Le lynestrénol semble exercer une action dépressive sur la fonction gonadotrope hypophysaire. Chez la Ratte, ce progestatif inhiberait l'ovulation en empêchant l'excrétion de la FSH hypophysaire, de telle sorte qu'il n'existerait aucun follicule mûr prêt à répondre à la LH. Ce mode d'action est le même pour la plupart des progestatifs [Decourt et coll. 1965(124), Szontagh 1965 (416)]. Il faut souligner que pour Junkman 1964 (233), expérimentant sur des animaux ayant leurs ovaires greffés dans la rate, le lynestrénol serait un faible inhibiteur de FSH.

En thérapeutique, ce progestatif a été largement utilisé. Associé au mestranol, il s'est montré un contraceptif oral d'une sécurité parfaitement assurée, qui, d'après les critères habituels: pas d'augmentation de la température ni d'excrétion du prégnandiol, inhibe effectivement l'ovulation chez la Femme [Ferin 1962 (156), 1964 (157), Mauvais-Jarvis et coll. 1964 (283), Robey et coll. 1964 (371), Knutson et coll. 1965 (248), Tausk 1966 (426)].

II - ANIMAUX ET TRAITEMENTS.

Notre expérimentation a été conduite sur des Rattes pubères, normales, de race Wistar, dont le poids est compris entre 140 et 170 g [Watnick et coll. 1964 (447)]. Pour la détermination quantitative de la 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductase, nous avons fait appel à des animaux de souche Sprague Dawley âgés de 56 à 60 jours.

En ce qui concerne l'éthinyl-œstradiol, Watnick et coll. 1964 (447) montrèrent que des doses comprises entre 0,5 mg et 0,05 mg par kilo de poids corporel et par jour, administrées per os, étaient suffisantes pour prévenir la gestation. Nous avons donc fait absorber ce produit à raison de 100 μ g par jour, sous forme d'une suspension dans une pseudo solution de carboxyméthylcellulose à 1 p. cent, dans de l'eau distillée de telle sorte que 1 ml de cette suspension corresponde à 200 μ g de principe actif.

Pour le lynestrénol, la dose quotidienne pour bloquer l'ovulation, chez la Ratte, est de 4 mg, administrée en deux prises de 2 mg chacune [Overbeek et coll. 1962 (333)]. Ce produit est administré sous forme de suspension dans le même véhicule que l'éthinyl-œstradiol de telle sorte que 1 ml de cette suspension corresponde à 8 mg de lynestrénol.

- Conduite du traitement.

Le cycle de la Ratte, ayant une durée de 4 à 5 jours [Overbeek et coll. 1962 (333), Watnick et coll 1964 (447)], le traitement sera de 11 jours consécutifs, de telle sorte que nous bloquerons la fonction ovarienne pendant un cycle et demi au moins et deux cycles au plus, quelle que soit la période du début du traitement.

Chaque série d'animaux comprend 2 ou 3 Rattes auxquelles nous avons administré le véhicule à l'aide d'une sonde : animaux témoins et 3 ou 4 Rattes qui seront traitées avec le produit antivulatoire à raison de 0,5 ml par jour dans le cas de l'œstrogène et 0,25 ml deux fois par jour, dans le cas du progestatif. Tous ces animaux sont nourris normalement.

Dans le cas de l'étude des variations de l'activité 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydo réductasique, ayant voulu rendre plus précise notre expérimentation, nous avons sélectionné des animaux présentant un cycle régulier de 4 jours et un œstrus typique. Pour ce faire, nous avons observé, chaque jour les frottis vaginaux colorés selon la méthode de Pundel et Lichtfus [Lichtfus et coll. 1957 (268)] et ceci pendant une quinzaine de jours. L'ovulation a été bloquée comme nous l'avons indiqué précédemment ; cependant le début du traitement coïncide avec le proœstrus. Des frottis vaginaux quotidiens, sur les animaux traités, permettent de s'assurer que l'ovulation a été effectivement bloquée. Enfin, chacune de nos expériences aura pu être suivie sur un animal déterminé.

III - PREPARATIONS ENZYMATIQUES.

Les Rattes sont sacrifiées le 12^e jour par inhalation de chloroforme pendant 2 minutes environ. Les ovaires dont les particules graisseuses ont été soigneusement retirées par dissection, sont placés dans un récipient hermétique afin d'éliminer les causes d'erreurs dues à la dessiccation, pesés sur balance Mettler, congelés ou non et homogénéisés durant exactement 2 minutes à l'Ultra-Turrax ou avec un appareil de Potter-Elvehjem dans le cas de la 3- β -hydroxystéroïde déshydrogénase. L'homogénat de départ est au 1/50^e dans de l'eau distillée, cependant pour cette dernière enzyme, l'eau distillée est remplacée par une solution de tampon de phosphates à pH 7,4. C'est à partir de cette solution mère ou de son surnageant dans le cas de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (celui-ci étant obtenu après centrifugation à 14 000 t/mn, pendant 3 heures, à une température de + 4° C) que nous ferons des dilutions convenables qui serviront aux dosages enzymatiques.

IV - EXPRESSION DES RESULTATS.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de substrat scindé pendant la durée de l'incubation et en μ mole de substrat métabolisé par rapport au poids moyen de l'ovaire frais. Nous serions également en mesure de les exprimer par rapport au taux de protéines et à celui de l'A.D.N. et de l'A.R.N.

Sur les différents tableaux sont portées les moyennes arithmétiques M des essais effectués pour chaque dilution et les écarts standards calculés d'après la formule suivante :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (M - M_x)^2}{n - 1}}$$

Σ = somme

M = moyenne arithmétique des résultats

M_x = résultat partiel

n = nombre d'expériences

V - EFFETS SECONDAIRES.

Au cours de notre expérimentation, nous avons observé en dehors des résultats recherchés les faits suivants : une légère diminution du poids des animaux et une involution très nette des gonades femelles.

- Action sur la croissance des animaux.

Overbeek et coll. 1962 (333) ont montré que le lynestrénol inhibe légèrement la croissance pondérale des femelles, cet effet étant une conséquence de l'activité œstrogénique. Il en sera de même des œstrogènes et en particulier du dipropionate d'œstradiol [Ishida 1965 (217)].

- Action sur le poids des ovaires.

Tout au long de notre expérimentation nous avons constaté une diminution manifeste du poids des ovaires beaucoup plus importante après traitement au lynestrénol qu'après traitement à l'éthinyl-œstradiol comme le montre le tableau n° 1 ci-après.

Animaux	Nombre d'animaux	Poids moyen d'un ovaire frais (grammes)		Diminution du poids de l'ovaire (en p. cent)
		M	σ	
Témoins	134	0,0342	0,0048	-
Traités éthinyl-œstradiol	105	0,0235	0,0036	31,2
Traités lynestrénol	95	0,0176	0,0049	48,5

Tableau n° 1 - Variations du poids de l'ovaire de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs soit à l'éthinyl-œstradiol (100 μ g par jour per os), soit au lynestrénol (2 fois 2 mg par jour, per os).

Les gonades femelles ont subi une diminution de poids de 31 p. cent après traitement par l'œstrogène et de 48,5 p. cent après traitement par le progestatif.

Nos travaux viennent confirmer les observations faites ultérieurement par quelques chercheurs. Overbeek et coll. 1962(333) ont montré que le lynestrénol diminue le poids de nombreux organes,

en particulier des ovaires. Cette involution réversible [Toth et coll. 1966 (429)] serait due à une diminution de volume du tissu lutéal [Holmes et coll. 1962 (210), Wakeling 1965 (442)]. Que ce soit après administration d'éthinyl-œstradiol [Watnick et coll. 1964 (447), Fujii et coll. 1965 (179)] ou de dipropionate d'œstradiol [Ishida 1965 (217)] les chercheurs ont montré une nette diminution du poids de l'ovaire après traitement par un œstrogène.

VI - DOSAGE DE L'AZOTE PROTEIQUE.

Etant données les modifications du métabolisme lipidique provoquées par le traitement antiovulatoire, nous n'avons pu déterminer le taux des protéines par la méthode de Fleury et coll. 1951 (166) car les lipides produisaient un trouble abondant avec le réactif cupro-tartrique, c'est pourquoi nous avons été amenée à doser l'azote total.

1 - Dosage .

a) Principe

L'azote organique est minéralisé en détruisant le tissu par l'acide sulfurique concentré à chaud en présence d'un catalyseur. L'azote est transformé en ammoniac qui est immédiatement fixé par l'acide sulfurique puis déplacé par la soude concentrée. Nous terminons par un dosage acidimétrique en présence de l'indicateur Duplex.

b) Réactifs

- Indicateur Duplex : mélanger 5 ml de Duplex concentré (vert de bromocrésol 0,47 g, rouge de méthyle 0,30 g, alcool à 95° 250 ml) à 20 g d'acide borique ; compléter à 500 ml avec de l'eau distillée.
- Acide sulfurique 0,1 N.
- Acide sulfurique concentré à 50 p. cent.
- Catalyseur de minéralisation : sulfate de potassium, oxyde de sélénium.
- Phénolphthaléine en solution alcoolique à 2 p. cent.
- Lessive de soude.

c) Mode opératoire

Introduire dans un matras :

- Substance à minéraliser : 0,20 g environ exactement pesée.

- Catalyseur de minéralisation : sulfate de potassium 1 g et oxyde de sélénium 0,02 g.
- Acide sulfurique concentré 5 ml.

Chauffer doucement au début, puis à ébullition jusqu'à décoloration totale du liquide ; éliminer les vapeurs dégagées ; laisser refroidir, puis introduire la solution à minéraliser dans le micro appareil de Parnass, puis 3 gouttes de phénolphtaléine et 20 ml de lessive de soude. Le produit d'entraînement est recueilli dans 5 ml d'indicateur Duplex qui vire du rouge au vert franc en milieu ammoniacal. On titre au fur et à mesure de la distillation par de l'acide sulfurique 0,1 N jusqu'à coloration gris lilas de l'indicateur.

2 - Résultats :

1 ml d'acide sulfurique 0,1 N correspond à 0,0014 g d'azote. Si n est le nombre de ml d'acide sulfurique 0,1 N et p le poids de $\overline{1a}$ substance minéralisée, l'azote total exprimé en g p. cent grammes d'ovaire frais est donné par la formule :

$$\frac{n \times 0,1401}{p}$$

Le résultat sera multiplié par 6,25 pour obtenir le pourcentage de protéines présentes dans le tissu ovarien.

Les dosages ont été effectués comparativement à une prise d'essai témoin d'urée.

Animaux	Nombre d'animaux	Azote total (en grammes pour 100 g de tissu frais)		Protéines totales (en grammes pour 100 g de tissu frais)
		M	σ	
Témoins	16	2,4	0,1	15,0
Traités éthynyl-œstradiol	11	2,4	0,1	15,0
Traités lynestrénol	11	2,0	0,1	12,5

Tableau n° 2 - Variations du taux de l'azote total et des protéines totales dans l'ovaire de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs soit à l'éthynyl-œstradiol (100 μ g par jour, per os) soit au lynestrénol (2 fois 2 mg par jour, per os) exprimées en grammes pour 100 grammes de tissu frais.

Les résultats indiqués précédemment (tableau n° 2) montrent que, après traitement à l'éthinyl-œstradiol les protéines ne varient pas, tandis que chez les Rattes traitées par le lynestrénol elles subissent une diminution évaluée à 16 p. cent.

VII - DOSAGES DE L'A.D.N. ET DE L'A.R.N.

L'extraction de ces nucléotides se fait selon la méthode de Schneider 1945 (400) modifiée par Kulka et coll. 1964 (258). Les tissus sont homogénéisés dans 50 volumes d'acide trichloracétique à 5 p. cent. Laisser ensuite 1 heure à + 4° C, puis centrifuger à 2000 t/mn pendant 5 minutes, décanter le surnageant. Le précipité est alors remis en suspension avec un volume d'acide trichloracétique à 5 p. cent égal à celui utilisé pour l'homogénat, centrifuger et décanter le surnageant. Le précipité est alors traité rigoureusement avec la même dilution que celle utilisée pour faire l'homogénat. Porter le tout à + 90° C pendant 15 minutes, centrifuger à 2000 t/mn pendant 5 minutes, doser l'A.D.N. et l'A.R.N. sur le surnageant ou ses dilutions.

1 - Dosage de l'A.D.N.

Ce dosage s'effectue selon la méthode de Dische 1955 (136).

a) Principe

La diphénylamine donne une coloration bleue avec les 2-désoxypentoses.

b) Réactifs

- Réactif de Dische à la diphénylamine : dissoudre 0,5 g de diphénylamine dans 50 ml d'acide acétique glacial très pur, ajouter 1,37 ml de SO₄H₂ concentré pur.
- Solution étalon d'A.D.N. à 0,10 g p. cent dans l'eau distillée (conserver à + 4° C).

c) Mode opératoire

A 1 volume de solution d'A.D.N. (2 ml) ajouter 2 volumes de réactif de Dische (4 ml) ; le mélange est porté pendant 10 minutes au bain-marie bouillant ; on obtient une coloration bleue très stable ; laisser refroidir et lire au photolorimètre à 595m μ .

L'étalonnage est effectué à l'aide de la solution étalon d'A.D.N. diluée au demi avec un égal volume d'acide trichloracétique à 10 p. cent. Porter alors le mélange 15 minutes au bain

marie bouillant. A 0 - 0,4 - 0,8 1,8 - 2 ml de cette solution ajouter de l'eau distillée q.s.p. 2 ml, traiter comme la solution d'A.D.N. à doser. Cette gamme correspond à 0 - 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,5 mg d'A.D.N. dans 1 ml de solution à doser.

2 - Dosage de l'A.R.N.

Ce dosage s'effectue selon la méthode de Mejbaum 1955 (292).

a) Principe

Le dosage de l'acide ribonucléique est basé sur la réaction d'un pentose, le ribose avec l'orcinol en présence de FeCl_3 comme catalyseur. Il existe plusieurs modifications se rapportant à la concentration de : HCl , FeCl_3 , et de l'orcinol. La modification proposée par Mejbaum est l'une des plus employée.

b) Réactifs

- Réactif de Mejbaum à l'orcinol modifié : solution mère de FeCl_3 1 ml, HCl concentré q.s.p. 10 ml. Mélanger à 0,85 ml de la solution ainsi obtenue 0,05 g d'orcinol très pur et HCl concentré q.s.p. 50 ml.
- Solution étalon d'A.R.N. : à 0,05 g p. cent.

c) Mode opératoire

A 1 volume de solution d'A.R.N. à doser, (2,5 ml) ajouter 1 volume de réactif (2,5 ml). Après 20 minutes au bain-marie bouillant, on obtient une coloration verte. Après refroidissement on détermine l'absorption à 670 $\text{m}\mu$.

L'étalonnage est effectué à l'aide de la solution étalon d'A.R.N. diluée au demi avec un égal volume d'acide trichloracétique à 10 p. cent ; le mélange est porté 15 minutes au bain marie bouillant Ajouter à 0 - 0,5 - 1 - 1,5 ... 2,5 ml de cette solution de l'eau distillée q.s.p. 2,5 ml ; traiter comme la solution d'A.R.N. à doser. Cette gamme correspond à 0 - 0,05 - 0,10 - 0,15 - 0,20 - 0,25 mg d'A.R.N. dans 1 ml de solution .

Remarque : Dans un surnageant contenant A.D.N. et A.R.N., il faut soustraire de la coloration verte totale donnée par l'orcinol la densité optique qui revient à l'A.D.N. : pour cela effectuer la réaction à l'orcinol sur une gamme d'A.D.N. En se rapportant à cette courbe, chercher quelle densité optique donne à l'orcinol l'A.D.N. trouvé pour cette dilution et la déduire de la densité tale trouvée par la réaction à l'orcinol.

III - RESULTATS .

Nombre d'animaux	Témoins		Traités éthiny-l-œstradiol		Traités lynestrénol	
	16		16		15	
	M	σ	M	σ	M	σ
A.D.N. (en mg par g d'organe frais)	13,2	1,1	13,5	1,2	13,8	0,9
A.R.N. (en mg par g d'organe frais)	4,3	0,7	4,3	0,9	4,2	0,8

Tableau n° 3 - Variations de l'A.D.N. et de l'A.R.N. dans l'ovaire de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs soit à l'éthiny-l-œstradiol (100 μ g par jour, per os) soit au lynestrénol (2 fois 2 mg par jour, per os), exprimées en mg pour 1g de tissu frais.

Les résultats (tableau n° 3) montrent qu'après un traitement de 11 jours consécutifs les taux d'A.D.N. et d'A.R.N. ne varient de manière significative ni chez les animaux traités par l'éthiny-l-œstradiol ni chez les animaux traités par le lynestrénol.

CHAPITRE II

ACTIVITE LACTATE DEHYDROGENASIQUE

La lactate déhydrogénase ou pyruvate réductase ou lactate NAD oxydoréductase catalyse la réaction suivante :



Cette réaction représente une des étapes primordiales du catabolisme glucidique en anaérobiose.

Il faut souligner que, ces dernières années, les auteurs ont rapporté la présence de cinq isoenzymes de la lactate déhydrogénase que ce soit dans le sérum ou dans les extraits tissulaires humains [Latner 1967 (263)].

I - DOSAGE

La méthode employée est due à Berger et coll. 1958 (40) reprise par Cabaud et coll. 1958 (81) avec quelques modifications de détails.

a) Principe .

La lactate déhydrogénase transforme en présence de NADH₂ l'acide pyruvique en acide lactique et NAD. L'acide pyruvique restant réagit avec la 2-4 dinitrophénylhydrazine pour former une hydrazone dont la coloration est appréciée au photocolorimètre à 525 mμ. Les autres composés sont incolores.

b) Réactifs .

- Solution tampon de phosphates à pH 7,8, selon Soerensen : mélanger en proportions convenables PO₄H₂K à 9,078 g p.l. (8,5ml) et PO₄HNa₂, 12 H₂O à 23,870 g p.l. (91,5 ml). Conserver à + 4°C.

- Solution de pyruvate de sodium à 11 mg pour 100 ml de solution tampon phosphate. Cette solution se conserve moins de deux semaines à + 4° C.
- Solution de nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH₂) à 10 mg pour 1 ml d'eau distillée glacée ; à préparer extemporanément.
- Solution de soude 0,4 N. Conserver à + 4° C.
- Solution de 2-4 dinitrophénylhydrazine (2-4 DNPH) :

2-4 DNPH	200 mg
HCl concentré	85 ml
Eau distillée Q.S.	1 litre.

Cette solution doit être conservée à + 4° C à l'abri de la lumière.

c) Mode opératoire.

Préparer :

- Témoin n° 1, non incubé (réglage du photolorimètre) : 1 ml de solution de pyruvate de sodium, 0,1 ml de préparation enzymatique et 0,1 ml d'eau distillée. Faire incubé pendant 15 et 30 minutes au bain-marie réglé à + 37°C.
- Chaque essai (activité enzymatique) 1 ml de solution de pyruvate de sodium, 0,1 ml de préparation enzymatique et 0,1 ml de solution NADH₂.
- Témoin n° 2 (activité spontanée) 1 ml de solution de pyruvate de sodium, 0,1 ml d'eau distillée et 0,1 ml de solution de NADH₂.

Au terme de l'incubation ajouter dans tous les tubes, 1ml de 2-4 DNPH pour arrêter la réaction. Agiter, laisser reposer 20 minutes à la température du laboratoire, puis ajouter 10 ml de NaOH 0,4 N. Agiter, après 10 à 15 minutes environ, apprécier la coloration obtenue au photolorimètre à 525 mμ.

L'étalonnage est effectué à l'aide d'une solution de pyruvate de sodium, dont les volumes de 0 - 0,1 ... 0,9 - 1 ml additionnés de 1,2 - 1,1 ... 0,3 - 0,2 ml d'eau distillée et traités comme indiqué ci-dessus, correspondent respectivement à 100 - 90... 10 - 0 p. cent d'activité.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/250	15	36,0	5,4	30,2	6,7
	30	57,4	6,2	49,6	8,2
1/500	15	21,8	4,3	17,1	3,9
	30	30,2	2,4	24,8	4,2
1/1000	15	12,8	1,5	8,0	1,9
	30	18,6	1,9	12,4	2,3
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0336	0,0024	0,0229	0,0023

Tableau n° 4 - Activité lactate déshydrogénasique dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs à l'éthinyl-œstradiol (100 μ g par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/250	15	35,3	2,2	23,8	1,9
	30	54,0	5,2	39,2	1,5
1/500	15	20,5	1,0	14,7	1,7
	30	30,2	2,5	20,1	1,9
1/1000	15	11,0	2,0	6,1	1,3
	30	17,2	2,5	9,2	1,7
Poids moyen de l'ovaire (grammes)	-	0,0304	0,0061	0,0171	0,0038

Tableau n° 5 - Activité lactate déshydrogénasique dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs au lynestrénol (2 fois 2 mg par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

II - RESULTATS.

Les résultats expérimentaux sont exprimés en pourcentage de substrat scindé durant l'incubation à + 37° C (Tableaux n° 4 et 5).

Nous avons observé une diminution de l'activité enzymatique que ce soit après éthynyl-œstradiol ou après lynestrénol. Considérons une dilution au 1/250 e et une durée d'incubation de 15 minutes :

Si nous exprimons les résultats par rapport à la prise d'essai, la perte de l'activité lactate déhydrogénasique est de 16 p. cent après traitement par l'éthynyl-œstradiol alors qu'elle est de 32 p. cent après traitement par le lynestrénol.

Si nous exprimons cette activité enzymatique en μ mole de substrat métabolisé par rapport au poids moyen de l'ovaire frais , nous avons en ce qui concerne les animaux traités par l'œstrogène une perte d'activité enzymatique de 43 p. cent ; dans le cas des animaux traités par le progestatif, elle atteint 77 p. cent.

Une diminution de l'activité lactate déhydrogénasique sous l'influence d'œstrogènes, avait, dès 1961 été observée par Balestri (27) pour qui l'administration quotidienne pendant 20 jours de 10 μ g d'œstradiol pour 100 g de poids corporel, provoque chez la Ratte pubère, une baisse de 50 p.cent, et par Wegmann et coll. 1963 (449), après administration d'œstrone à la dose de 1 mg deux fois par jour, pendant 3 jours. Ces auteurs ont aussi montré une diminution du taux de l'enzyme après injection de progestérone , ce qui rejoint les résultats que nous avons obtenus avec le lynestrénol. Récemment, Toth et coll. 1966 (429) ont prouvé par des techniques histo-enzymologiques, qu'après injection, pendant 2 mois de 0,10 mg de lynestrénol à des ratte pubères, l'activité lactate déhydrogénasique diminue non seulement dans l'ovaire mais encore dans le foie et dans les surrénales.

CHAPITRE III

ACTIVITE GLUCOSE - 6 - PHOSPHATE DEHYDROGENASIQUE

La découverte de ce système enzymatique découle de l'observation de Barron : en effet, le glucose est oxydé par les globules rouges en présence de bleu de méthylène ou de méthémoglobine. Warburg et Christian montrèrent qu'un extrait soluble de globules rouges n'oxyde plus le glucose mais l'ester glucose-6-phosphorique ou ester de Robison. Ces travaux sont à l'origine de la découverte du NADP, des ferments jaunes et du rôle des co-enzymes [Javillier et coll. 1964 (220)].

En 1960 Tsao (430) sépara cette enzyme en de multiples formes après électrophorèse sur gel d'amidon.

I - DOSAGE

La méthode employée est celle de Kornberg et coll. 1955 (252) légèrement modifiée.

a) Principe .

La glucose - 6 - phosphate déhydrogénase catalyse la réaction suivante :



Le $NADPH_2$ formé est mesuré au spectrophotomètre Zeiss à 340m μ .

b) Réactifs .

- Solution tampon de pH 7,6 : dissoudre 9,285 g de chlorhydrate de triéthanolamine et 1,861 g d'éthylène diamine tétracétate de sodium dans 1 litre d'eau distillée. Ajuster le pH à l'aide de la solution de potasse N. Conserver à + 4° C.

- Solution de substrat : $2,05 \cdot 10^{-2} \text{M}$: Triturer dans un tube à centrifuger 535,05 mg de G-6-P Ba, $7 \text{H}_2\text{O}$ avec 25 ml d'acide acétique 0,5 M. Ajouter goutte à goutte environ 2 ml de solution de SO_4K_2 0,57 M jusqu'à précipitation totale du baryum. Agiter, centrifuger et vérifier que le surnageant ne précipite plus par addition d'une goutte de SO_4K_2 . Prélever le surnageant et neutraliser goutte à goutte à l'aide de la solution de potasse N. Compléter à 42,5 ml avec de l'eau distillée. Agiter, répartir en flacons de polythène et conserver à -25°C .
- Solution de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP) 10^{-2}M à 8,0145 mg pour 1 ml d'eau distillée glacée. A préparer extemporanément.
- Solution de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit ($\text{NADPH}_2\text{Na}_4$) 10^{-3}M à 0,869 mg pour 1 ml de solution tampon de pH 7,6. A préparer extemporanément .
- Solution de Potasse N. A conserver à $+4^\circ\text{C}$.
- Solution de sulfate de Potassium 0,57 M (99,18 g p. l.). Conserver à $+4^\circ\text{C}$.

c) Mode opératoire.

Préparer :

- Témoin n° 1, non incubé (réglage du spectrophotomètre) : 1,8 ml de solution tampon, 1 ml de préparation enzymatique et 0,2 ml d'eau distillée.
- Chaque essai (activité enzymatique) : 1,8 ml de solution tampon 1 ml de préparation enzymatique, 0,1 ml de solution de NADP, 0,1 ml de substrat G-6-P. Agiter et lire chaque minute pendant 10 minutes l'absorption à $340 \text{ m}\mu$.
- Témoin n° 2 (activité spontanée) : 2,8 ml de solution tampon, 0,1 ml de solution NADP et 0,1 ml de solution de substrat G-6-P. Opérer comme ci-dessus.

L'étalonnage est effectué à l'aide d'une solution de $\text{NADPH}_2\text{Na}_4 10^{-3} \text{M}$ dont les volumes de 0 - 0,1 ... 0,9 - 1 ml additionnés de 1,1 ml d'eau distillée et de 1,9 - 1,8 - 1,7 ... 1 - 0,9 ml de solution tampon, correspondent à 0 - 10 ... 90 - 100 p. cent d'activité.

Dilutions du surnageant de l'homogénat (3 h. 14.000 t/m)	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		15		20	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/100	5	31,4	9,2	21,9	5,4
	10	55,7	7,6	36,6	6,9
1/200	5	13,5	4,3	8,7	3,6
	10	28,9	5,4	15,5	4,8
1/400	5	7,3	1,5	4,9	2,0
	10	16,3	3,8	8,8	4,2
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0265	0,0031	0,0234	0,0034

Tableau n° 6 - Activité glucose-6-phosphate déhydrogénasique dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs à l'éthinyl-œstradiol (100 μ g par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions du surnageant de l'homogénat (3 h. 14000 t/m)	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/100	5	29,5	2,6	14,1	2,3
	10	57,5	4,2	27,9	3,1
1/200	5	14,5	2,5	6,4	0,9
	10	28,2	3,2	13,5	2,9
1/400	5	7,7	1,2	3,4	1,0
	10	14,4	2,8	6,9	1,8
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0351	0,0053	0,0170	0,0034

Tableau n° 7 - Activité glucose-6-phosphate déhydrogénasique dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs au lynestrénol (2 fois 2 mg par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

II - RESULTATS.

Le blocage de l'ovulation par les œstrogènes et les progestatifs provoque une diminution marquée de cette activité enzymatique (tableaux n° 6 et 7) qui, si nous considérons une dilution au 1/200^e et une durée d'incubation de 5 minutes est de 35 p. cent après traitement par l'éthinyl-œstradiol et de 56 p. cent après lynestrénol. Cette chute de l'activité glucose-6-phosphate déhydrogénasique est beaucoup plus nette encore si nous la rapportons au poids moyen de l'ovaire frais. En effet, en ce qui concerne l'œstrogène, chez les animaux traités l'ovaire frais métabolise 0,833 μ mole de substrat, tandis que chez les animaux témoins, 1,8 μ mole de substrat ont été métabolisées. Exprimée ainsi, la baisse de l'activité enzymatique produite par le traitement à l'éthinyl-œstradiol est de 44 p. cent. Après lynestrénol, le taux de glucose-6-phosphate déhydrogénase a subi une diminution de 78 p. cent: en effet, tandis que les ovaires des animaux témoins métabolisent 2 μ mole de substrat, pour les animaux traités, ce chiffre n'est que de 0,44 μ mole.

Nos travaux viennent confirmer ceux de Zerbian 1966 (471) pour qui l'administration quotidienne de 200 μ g de dipropionate d'œstradiol pendant 30 jours, provoque une disparition complète de l'enzyme dans l'ovaire de Cobaye. Cependant, pour Wegmann et coll. 1963 (449) œstrone et progestérone à raison de 1 mg deux fois par jour pendant 30 jours ne modifient pas l'activité glucose-6-phosphate déhydrogénasique du tissu ovarien de Ratte pubère.

CHAPITRE IV

ACTIVITE 3- β -HYDROXYSTEROIDE NAD OXYDOREDUCTASIQUE

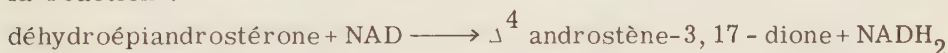
La présence de 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductase a été décelée dans les tissus produisant des stéroïdes : le testicule, la prostate [Beyler et coll. 1956 (45)], les surrénales [Rubin et coll. 1957 (378)], les ovaires [Rubin et coll. 1961 (381)] et le placenta.

I - DOSAGE.

L'activité de cette enzyme est appréciée selon la technique de Rubin et coll. 1961 (381) modifiée par Grangaud et coll. 1966 (196) et adaptée à l'ovaire.

a) Principe.

La 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductase, catalyse l'oxydation des Δ^5 3- β -hydroxystéroïdes, tels la déhydroépiandrostérone (D.H.A.) en Δ^4 3- β -cétostéroïdes. en présence de NAD, selon la réaction :



L'absorption due au groupement Δ^4 3 cétone est déterminée au spectrophotomètre Zeiss à 240 m μ .

b) Réactifs.

- Solution tampon de phosphates à pH 7,4 : mélanger extemporanément des volumes égaux de :
 - solution de ClNa à 9 g p. mille dans de l'eau distillée.
 - solution tampon de phosphates 0,2 M de pH 7,4 obtenue en mélangeant 19 ml de solution de PO₄H₂Na à 27,8 g p.l. à 81 ml de

solution de PO_4HNa_2 , 12 H_2O , à 71,7 g p. l. Diluer à 200 ml avec de l'eau distillée.

- Solution de substrat : dissoudre 10 mg de D.H.A. dans 10 ml d'éthanol spectro-photométriquement pur, ajouter 8 ml de propylène glycol. Conserver à + 4°C.
- Solution alcoolique de Δ^4 androstène - 3,17 - dione à 0,0049 g p. 100 ml.
- Solution de NAD à 25 mg pour 1 ml d'eau distillée glacée ; à préparer extemporanément.
- Mélange propylène-glycol, alcool éthylique dans les proportions respectives de 2 volumes de propylène-glycol pour 8 volumes d'alcool éthylique.
- Acétate d'éthyle.
- Alcool éthylique spectrophotométriquement pur.

c) Mode opératoire.

Préparer dans des fioles bouchant émeri, préalablement refroidies à + 4°C :

- Témoin : préparation enzymatique 1,7 ml, mélange propylène-glycol-alcool éthylique 0,1 ml, solution de NAD 0,1 ml. Faire un tube pour chaque dilution.
- Essai : préparation enzymatique 1,7 ml, solution de D.H.A. 0,1 ml, solution de NAD 0,1 ml.

Incuber les deux séries de fioles dans un bain-marie à + 37°C pendant 30 et 60 minutes.

La réaction est arrêtée en plongeant les tubes dans de l'eau glacée. On ajoute ensuite dans chaque fiole 6 ml d'acétate d'éthyle. Agiter, et centrifuger 5 minutes à 3 000 t/mn ; prélever 4 ml de surnageant. Evaporer sous vide dans le " Rotavapor SB " ; les dernières traces de solvant sont éliminées par un courant d'azote. Reprendre le résidu par 5 ml d'éthanol ; lire l'absorption au spectrophotomètre Zeiss à 240 $\text{m}\mu$.

L'étalonnage est effectué à l'aide de la solution de Δ^4 androstène-3,17-dione dont les volumes de 0 - 0,1 ... 0,9 - 1 ml additionnés de 4 - 3,9 ... 3,1 - 3 ml d'éthanol correspondent respectivement à 0 - 10 ... 90 - 100 p. cent d'activité.

II - RESULTATS.

Les résultats relatifs à 74 ovaires sont résumés dans les tableaux n° 8 et 9.

Nombre d'ovaires = 14				
Dilutions de l'homogénat	Durée de l'incubation (minutes)			
	30		60	
	M	σ	M	σ
1/200	26,1	3,4	52,1	9,8
1/400	11,6	3,3	26,0	5,9
1/800	5,6	1,1	11,5	5,0

Tableau n° 8 - Activité 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductasique dans les ovaires de Rattes en œstrus, exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dans une première série d'expériences (tableau n° 8), nous avons étudié les variations de l'activité enzymatique pendant l'œstrus en fonction de l'importance de la dilution et de la durée de l'incubation : la valeur optimum de celle-ci serait de 30 minutes comme l'ont montré Rubin et coll. 1961 (381). Puis nous avons comparé les variations de l'activité 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductasique ovarienne, chez les animaux témoins au cours du proœstrus, de l'œstrus et du dioœstrus à celles obtenues après traitement à l'éthinyl-œstradiol ou au lynestrénol (tableau n° 9). Nous constatons que l'intensité de la réaction passe par un minimum au cours de l'œstrus pour être plus élevée pendant le proœstrus et le dioœstrus comme l'avait déjà montré Arvy 1963 (16) étudiant l'activité enzymatique par une méthode histo-enzymologique dans les différents tissus de l'ovaire de Ratte au cours du cycle. Après traitement à l'éthinyl-œstradiol nous avons observé une augmentation de 43 p. cent par rapport aux témoins en dioœstrus ; ceci rejoint les travaux de Beyler et coll. 1956 (45) qui, sur des rats

Animaux	Nombre d'expériences	Nombre d'ovaires	Poids moyen de l'ovaire frais (gramme)		Dilutions de l'homogénat		
			M	σ	1/400		1/800
					M	σ	
Proestrus	5	10	0,0335	0,0027	14,5	1,3	7,5
Oestrus	7	14	0,0389	0,0040	11,6	3,3	5,6
Dioestrus	7	14	0,0388	0,0052	15,5	1,6	7,3
Traités éthynyl-oestradiol	9	18	0,0240	0,0016	22,2	3,3	9,9
Traités lynestrénol	9	18	0,0262	0,0059	17,1	1,7	8,2
							1,3

Tableau n° 9 - Activité 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductasique dans les ovaires de Rattes en proestrus, oestrus, dioestrus et sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs à l'éthynyl-oestradiol (100 μ g par jour, per os) et au lynestrénol (2 fois 2 mg par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

mâles ont prouvé que l'administration de dipalmitate de diéthylstilboestrol ou de 17- β -œstradiol produisait une augmentation du taux de cette enzyme dans le testicule. Dans les conditions expérimentales précitées, le lynestrénol n'augmente que de 10 p.cent le taux 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductasique si l'on se réfère à des animaux témoins en dioestrus.

Si nous exprimons ces résultats en μg de Δ^4 androstène-dione formés par minute et par animal, nous obtenons les valeurs suivantes : proëstrus : 6,9 μg , œstrus 6,3 μg , dioestrus : 8,0 μg , traités lynestrénol : 6,3 μg , traités éthynyl-œstradiol : 7,5 μg . Nous notons une augmentation de l'activité enzymatique par rapport au proëstrus et à l'œstrus en ce qui concerne le traitement par l'œstrogène, mais, après lynestrénol, le taux de l'enzyme est inférieur à celui des ovaires de ratte en dioestrus. Cette dernière constatation rejoint les travaux de Toth et coll. 1966 (429) qui avaient montré par des méthodes histo-chimiques qu'après injection sous-cutanée de 0,10 mg de lynestrénol, tous les deux jours, pendant deux mois, l'activité enzymatique subissait une diminution dans les ovaires de ratte pubères. De plus, au cours de diverses expérimentations, sur l'Homme, Mauvais-Jarvis 1966 (281) a constaté que le lynestrénol inhibait l'activité leydigienne du testicule, cependant cette réaction est plus nette lorsque ce progestatif est associé au mestranol.

D'autre part il faut signaler que, cette stéroïde déhydrogénase oxyde le lynestrénol en 17-cétostéroïde ; il doit y avoir compétition entre la conversion du lynestrénol en 17-cétostéroïde et celle de la prégnénolone en progestérone en faveur de la formation de 17-cétostéroïde lorsque le taux de lynestrénol est supérieur à celui de la prégnénolone [Toth et coll. 1966 (429)]. Nous devons rappeler ici que la 3- β -hydroxystéroïde NAD oxyréductase intervient avec la Δ^4 , Δ^5 isomérase, à plusieurs niveaux dans le métabolisme des stéroïdes : prégnénolone $\longrightarrow$ progestérone, 17- α -hydroxyprégnénolone $\longrightarrow$ 17- α -hydroxyprogestérone ; 17- α -, 20- α -dihydroxyprégnénolone $\longrightarrow$ 17- α -, 20- α -dihydroxyprogestérone ; déhydroépiandrostérone $\longrightarrow$ androstène-dione.

III - ETUDE HISTO-ENZYMOLOGIQUE.

Pour compléter et préciser les résultats biochimiques obtenus, nous avons fait appel à l'histo-enzymologie.

Pour ce faire nous avons utilisé la technique de Levy et coll. 1959 (265) légèrement modifiée, sur tissu frais ou sur tissu

fixé par le mélange formol-calcium dont la composition est la suivante : solution aqueuse de formol RP 6 ml, CaCl_2 cristallisé 1 g eau distillée q.s.p. 100 ml. Le substrat est la déhydroépiandrostérone (D.H.A.) en présence de NAD et le réactif de coloration est le tétranitro BT (N.B.Co).

Après incubation 30 minutes à $+37^\circ\text{C}$, les sections sont post-fixées dans une solution neutre de formaldéhyde à 10 p. cent.

Résultats :

La répartition histochimique de la 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductase dans l'ovaire de Ratte Sprague Dawley a été décrite et détaillée par de nombreux auteurs parmi lesquels nous citerons Arvy 1963 (16), Baillie et coll. 1966 (24 bis), Hadjiiski et coll. 1967 (119 bis), Pupkin et coll. 1966 (359), Zuckerman 1962 (473).

Sur les animaux expérimentés, les structures positives pour la réaction (+++ à ++++) sont les cellules de la thèque interne, les cellules interstitielles, les corps jaunes à divers stades avec, pour ces derniers, des variations dans l'intensité de leur réponse.

Chez les Rattes traitées on constate :

- l'apparition, la constitution de corps jaunes hypertrophiques, pleins, massifs, en position périphérique, en hyperactivité 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductasique.
- une légère diminution de cette activité enzymatique au niveau des cellules interstitielles.
- une raréfaction relative des stades folliculaires intermédiaires.

Cependant afin de pouvoir interpréter ces résultats, une confrontation des données histo-enzymologiques doit être faite avec des données histologiques obtenues après coupes en séries d'ovaires in toto.

CHAPITRE V

ACTIVITES LIPASIQUES ET ALIESTERASIQUES

Une certaine confusion règne encore dans la classification des enzymes susceptibles d'hydrolyser les esters d'acides organiques ; cependant nous nous sommes proposée d'étudier les estérases banales ou aliestérases et les lipases.

Les aliestérases attaquent les esters de monoalcools et de diacides, les esters du glycérol et d'acides gras de faible poids moléculaire ainsi que les esters les plus variés. Les lipases représentent les enzymes hydrolysant les esters du glycérol et des acides gras de poids moléculaire élevé [Javillier et coll. 1964 (220)].

Ces estérases ont pu être divisées en de multiples isoenzymes dont le nombre varie avec le tissu et l'espèce étudiée ; cette différence marquée entre espèces peut-être utilisée pour les identifier et pour étudier les variations génétiques [Latner 1967 (263)].

I - DOSAGE.

Les activités lipasiques et aliestérasiques sont appréciées selon la technique de Seligman et coll. 1950 (403) modifiée par David, Dastugue, Thieblot, Bastide 1960 (117).

a) Principe.

Après hydrolyse enzymatique du β -naphtyl-caprylate, le β -naphtol libéré est transformé en colorant azoïque par addition d'un sel de diazonium. Le pigment insoluble est extrait à l'acétate d'éthyle et la coloration obtenue est appréciée par photocolorimétrie à 540 m μ . L'addition de taurocholate de sodium inhibant

les estérases et activant les lipases permet le dosage de ces dernières enzymes.

b) Réactifs.

- Solution de tampon de barbital selon Michaelis, de pH 7,4: mélanger en proportions convenables : barbital sodique à 20,62 g p.l. (58 ml) et acide chlorhydrique 0,1 N(42 ml). Conserver à + 4° C.
- Solution de substrat :
 - solution mère acétonique de β -naphtyl-caprylate à 41,4 mg pour 100 ml. Conserver à + 4° C.
 - solution diluée de substrat : prendre 5 ml de solution mère de β -naphtyl-caprylate; ajouter 10 ml de solution tampon barbital et compléter à 50 ml avec de l'eau distillée. A préparer extemporanément.
- Solution de taurocholate de sodium (accelerator lipase N.B.Co) à 4,3 g p. 100 ml Conserver à + 4° C.
- Solution d'acide trichloracétique à 40 p. cent. Conserver à +4°C.
- Solution de diorthoanisidine tétra-azotée à 4 mg par ml d'eau distillée glacée. A préparer extemporanément.
- Solution mère acétonique de β -naphtol à 22 mg p. cent. Solution diluée préparée en prélevant 5 ml de la solution précédente et en complétant à 50 ml avec de l'acétone.

c) Mode opératoire.

Préparer :

- Témoin n° 1, non incubé (réglage du photolorimètre) 5 ml de solution colloïdale de substrat, 2 ml d'eau distillée.
Faire incuber pendant 30 et 60 minutes dans un bain-marie réglé à + 37° C :
- Chaque essai :
 - 5 ml de solution colloïdale de substrat, 1 ml de solution enzymatique et 1 ml d'eau distillée.
 - 5 ml de solution colloïdale de substrat, 1 ml de préparation enzymatique et 1 ml de solution de taurocholate de sodium.
- Témoin n° 2 (activité spontanée) :
 - 5 ml de solution colloïdale de substrat, 2 ml d'eau distillée.
 - 5 ml de solution colloïdale de substrat, 1 ml d'eau distillée et 1 ml de solution de taurocholate de sodium.

Au terme de l'incubation plonger tous les tubes dans de l'eau glacée et ajouter 1 ml de solution de diorthoanisidine. Agiter attendre 2 minutes et mettre 1 ml d'acide trichloracétique à 40 p. cent. Extraire la coloration obtenue par 10 ml d'acétate d'éthyle par agitation et centrifugation. Prélever la couche supérieure et apprécier la coloration au photocolorimètre à 540 m μ .

L'étalonnage est effectué avec la solution diluée de β - naphthol, dont les volumes de 0 - 0,5 ... 4, 4,5 - 5 ml additionnés de 5 - 4,5 1 - 0,5 - 0 ml d'eau distillée et de 1 ml de solution tampon barbital de pH 7,4, sont traités comme indiqué ci-dessus et correspondent respectivement à 0 - 10 90 - 100 p. cent d'activité.

II - RESULTATS .

Les résultats relatifs à 100 ovaires sont résumés dans les tableaux n° 10, 11, 12 et 13. Il faut noter (tableaux n° 10 et 11) que l'activité aliestérasique est très importante dans les ovaires, elle est en effet de 6 p. cent si nous considérons une dilution au 1/10.000 e et une durée d'incubation de 60 minutes.

Si nous exprimons les résultats par rapport à la prise d'essai, après traitement par le lynestrénol (tableau n° 11) les variations de l'activité estérasique peuvent être considérées comme négligeables tandis qu'après éthinyl-œstradiol, (tableau n° 10), nous avons observé une légère diminution évaluée à 10 p. cent.

Cependant si nous rapportons l'activité enzymatique au poids moyen de l'ovaire frais, nous obtenons une diminution du taux des aliestérases évaluée à 35 p. cent quelle que soit la substance expérimentée.

Quant à l'activité lipasique, si nous exprimons les résultats par rapport à la prise d'essai, elle subit une augmentation évaluée à 24 p. cent après lynestrénol, tandis qu'après éthinyl-œstradiol, nous avons observé une diminution de 23 p. cent. Les variations des activités lipasiques par rapport au poids moyen de l'ovaire frais, se traduisent par une diminution de 35 p. cent dans le premier cas et de 37 p. cent dans le deuxième cas. Le fait d'avoir obtenu lors du traitement au lynestrénol une augmentation des activités enzymatiques, si nous les exprimons en pourcentage de substrat métabolisé et une diminution si nous les exprimons par rapport au poids moyen de l'ovaire frais s'explique par l'involution considérable des ovaires des animaux traités.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/2500	30	14,5	1,8	13,2	2,6
	60	24,2	3,1	22,0	3,7
1/5000	30	7,6	1,7	7,2	1,7
	60	14,0	0,8	11,0	3,5
1/10.000	30	4,1	1,0	3,3	0,9
	60	7,0	2,0	6,3	2,2
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0267	0,0077	0,0216	0,0056

Tableau n° 10 - Activités aliestérasiques dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs à l'éthinyl-œstradiol (100 μ g par jour, per os), exprimées en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/2500	30	13,7	1,5	14,3	2,5
	60	26,9	2,9	29,4	3,2
1/5000	30	6,6	0,3	7,1	1,8
	60	12,1	2,1	13,3	2,7
1/10.000	30	3,0	1,2	3,6	1,0
	60	5,9	0,2	6,1	1,5
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0343	0,0059	0,0187	0,0064

Tableau n° 11 - Activités aliestérasiques dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs au lynestrénol. (2 fois 2 mg par jour, per os), exprimées en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/250	30	25,1	1,9	20,1	1,8
	60	40,5	1,1	30,8	5,1
1/500	30	14,8	1,6	12,2	2,1
	60	22,6	1,2	17,7	2,3
1/1000	30	8,7	1,5	6,7	1,6
	60	15,5	1,6	10,6	1,4
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0267	0,0077	0,0216	0,0056

Tableau n° 12 - Activité lipasique dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs à l'éthinyl-oestradiol. (100 μ g par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/250	30	24,5	3,1	35,5	6,2
	60	39,6	3,5	64,8	9,2
1/500	30	13,6	1,8	21,5	4,1
	60	20,2	3,0	39,5	4,7
1/1000	30	8,5	0,2	10,5	0,9
	60	14,2	0,6	19,4	1,2
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0343	0,0059	0,0187	0,0064

Tableau n° 13 - Activité lipasique dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs au lynestrénol. (2 fois 2 mg par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Les modifications du métabolisme lipidique sous l'influence d'un traitement antioovulatoire ont déjà été rapportées par Baker et coll. 1965(25) et par Sawasaki et coll. 1965 (398). En ce qui concerne l'action des œstrogènes sur les deux enzymes étudiées nous citerons les travaux de Zerbian 1966 (471) pour qui l'injection de dipropionate d'œstradiol à des Cobayes pubères provoque une augmentation du taux des aliestérases dans la thèque interne et une diminution importante dans les autres tissus folliculaires.

Après injection à des Rattes pubères de 6- α -méthyl-17- α -acétoxyprogestérone à raison de 100 μ g par jour, pendant 7 jours, Turolla 1960 (433) a observé une diminution du taux de la lipase et des aliestérases. Cette perte d'activité aliestérasique, après traitement par un progestatif, fut confirmée par les travaux de Toth et coll. 1966 (429), qui, par des techniques histochimiques montrèrent qu'après injection de 0,10 mg de lynestrénol, chez la Ratte pubère, le taux des estérases non spécifiques diminue non seulement dans l'ovaire mais encore dans le foie et les surrénales.

CHAPITRE VI

ACTIVITES PHOSPHATASIQUES

Les phosphatases sont des phosphomonoestérases, enzymes catalysant l'hydrolyse de monoesters de l'acide orthophosphorique en acide phosphorique et en alcool ou phénol. On en distingue deux types : la phosphatase de type I ou phosphatase alcaline de pH optimum voisin de 8,0 - 9,0 et les phosphatases acides dont la plus connue est la phosphatase de type II, caractérisée par un pH optimum de 5,0 - 5,6. Nous n'aborderons pas ici le problème des isoenzymes des phosphatases qui sont nombreuses et qui constituent depuis ces dernières années l'objet d'études très poussées.

I - DOSAGE .

Les activités enzymatiques ont été appréciées selon la technique de Bessey et coll. 1946 (44).

a) Principe.

Le paranitrophénylphosphate incolore libère à + 37° C par hydrolyse du groupement phosphate, du paranitrophénol coloré en jaune en milieu alcalin.

Selon le pH du milieu d'incubation on apprécie l'activité phosphatasique acide ou alcaline.

b) Réactifs.

- Solution tampon glycocolle - soude 0,4 M de pH 10,5. Préparer deux solutions à conserver à + 4° C.

Solution A :	Glycocolle	7,505 g	
	Chlorure de sodium	5,85 g	
	Alcool à 80°	20 ml	
	Eau distillée Q.S.	1000 ml	

Solution B : Soude 0,1 N 1000 ml

Mélanger extemporanément 55 ml de solution A et 45 ml de solution B.

- Solution de tampon citrique de pH 4,8.

Acide citrique	21,008	g
Soude N	200	ml
Eau distillée Q.S.	1000	ml

Conserver à + 4° C.

- Solution de substrat : solution de paranitrophénylphosphate de sodium M/1000 à 26,3 mg pour 100 ml d'eau distillée. A préparer extemporanément.
- Solution de paranitrophénol M/2000 à 13,9 mg pour 200 ml d'eau distillée. A préparer extemporanément.
- Solutions de soude 0,02 N et 0,2 N. Conserver à + 4° C.

c) Mode opératoire.

Préparer :

- Témoin n° 1, non incubé (réglage du spectrophotomètre) : 1,1 ml d'eau distillée et 10 ml de solution de soude 0,02 N.
Faire incuber pendant 30 et 60 minutes dans un bain-marie réglé à + 37° C :
- Chaque essai :

activité phosphatasique alcaline : 1ml du mélange à parties égales et extemporané de solution de tampon glycolle-soude et de solution de substrat M/1000 et 0,1 ml de préparation enzymatique.

activité phosphatasique acide : 1ml du mélange à parties égales et extemporané de solution de tampon citrique et de solution de substrat M/1000 et 0,1 ml de préparation enzymatique.

- Témoin n° 2 (activité spontanée) : 1 ml du mélange à parties égales et extemporané de solution de tampon glycolle - soude (ou tampon citrique) et de solution de substrat M/1000 et 0,1 ml d'eau distillée.

A la fin de l'incubation ajouter dans tous les tubes (essais et témoins n° 2) : 10 ml de solution de soude 0,02 N (activité phosphatasique alcaline) ou 10 ml de solution de soude 0,2 N (activité phosphatasique acide); la réaction est ainsi arrêtée et la coloration développée. La lecture des densités optiques obtenues est effectuée au spectrophotomètre Zeiss à 410 mμ.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		14		20	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/125	30	28,8	2,8	37,1	2,8
	60	48,3	2,7	53,7	2,9
1/250	30	16,5	1,9	19,2	1,8
	60	24,7	1,9	30,6	1,7
1/500	30	10,3	0,9	12,4	0,8
	60	13,5	0,8	16,8	0,7
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0287	0,0035	0,0249	0,0033

Tableau n° 14 - Activité phosphatasique alcaline dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs à l'éthinyl-oestradiol (100 μ g par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/125	30	26,5	2,4	41,7	4,1
	60	45,7	3,1	71,5	3,9
1/250	30	13,3	0,8	20,6	1,8
	60	21,8	2,3	37,6	1,4
1/500	30	7,6	0,7	11,8	1,1
	60	12,8	1,8	19,0	2,5
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0390	0,0033	0,0199	0,0060

Tableau n° 15 - Activité phosphatasique alcaline dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs au lynestrénol (2 fois 2 mg par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		14		20	
	Durée de l'incubation (heures)	M	σ	M	σ
1/125	1	23,1	2,9	23,0	1,9
	2	39,1	2,7	37,7	2,2
1/250	1	11,6	1,7	11,5	1,1
	2	20,9	1,1	19,8	1,4
1/500	1	8,5	1,6	6,7	0,6
	2	11,5	1,2	10,0	1,5
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0287	0,0035	0,0249	0,0033

Tableau n° 16 - Activité phosphatasique acide dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs à l'éthinyl-œstradiol (100 μ g par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (heures)	M	σ	M	σ
1/125	1	20,6	4,7	23,0	4,4
	2	35,3	6,0	38,7	5,8
1/250	1	11,1	1,1	12,7	1,8
	2	18,0	2,4	19,8	2,7
1/500	1	6,4	1,3	6,5	1,4
	2	9,8	2,1	11,7	1,9
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0390	0,0033	0,0199	0,0060

Tableau n°17 - Activité phosphatasique acide dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs au lynestrénol (2 fois 2 mg par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

L'étalonnage est effectué à l'aide d'une solution de paranitrophénol M/2000 dont les volumes de 0 - 0,1 - ... 0,9 - 1 ml additionnés de 1,1 - 1 0,2 - 0,1 ml d'eau distillée et de 10 ml de solution de soude 0,02 N, correspondent respectivement à 0 - 10 90 - 100 p. cent d'activité.

III - RESULTATS .

Les résultats relatifs à 138 ovaires sont résumés dans les tableaux n° 14, 15, 16 et 17.

Si nous les exprimons par rapport à la prise d'essai, dans le cas de Rattes traitées à l'éthinyl-œstradiol, nous avons observé une augmentation de l'activité phosphatasique alcaline évaluée à 16 p. cent (pour une dilution au 1/250e et une durée d'incubation de 30 minutes); cependant le taux de la phosphatase acide ne varie pas (tableaux n° 14 et 16). Après traitement par le lynestrénol, l'activité de cette dernière enzyme s'élève légèrement de 10 à 15 p. cent ; en ce qui concerne l'activité phosphatasique alcaline, l'augmentation est de l'ordre de 50 p. cent (tableaux n° 15 et 17).

Si nous exprimons l'activité enzymatique en μ mole de substrat métabolisé par rapport au poids moyen de l'ovaire frais, nous obtenons des résultats opposés puisque les variations des activités enzymatiques et du poids de l'ovaire évoluent inversement. Si nous considérons pour ces deux enzymes une dilution au 1/250e, une durée d'incubation de 60 minutes pour la phosphatase acide et de 30 minutes pour la phosphatase alcaline, l'activité de cette première enzyme diminue de 11 p. cent après éthinyl-œstradiol et de 41 p. cent après lynestrénol. Quant à l'activité de la phosphatase alcaline, elle reste constante après éthinyl-œstradiol, tandis qu'après lynestrénol, elle subit une diminution de 22 p. cent.

En 1966 Toth et coll. (429), étudiant chez la Ratte pubère, par des techniques histochimiques, les modifications des activités phosphatasiques après injection sous-cutanées de 0,10mg de lynestrénol, tous les deux jours, pendant deux mois, montrèrent que ces enzymes diminuent quelque peu non seulement dans l'ovaire mais encore dans le foie et les surrénales.

CHAPITRE VII

ACTIVITE BETA - GLUCURONIDASIQUE

L'enzyme hydrolysant les osides de l'acide β - glucuronique est la β -glucuronidase décelée dès 1905 par Neuberg et Nieman d'une part et par Hildebrandt d'autre part, dans l'émulsion d'amande. Cette enzyme se rencontre dans diverses bactéries, chez de nombreux insectes. Elle est présente dans la plupart des tissus de Mammifères [Javillier et coll. 1964 (220)].

I - DOSAGE.

L'activité β -glucuronidasique est appréciée suivant la technique de Talalay et coll. 1946 (423) quelque peu modifiée [Baudon, Bastide, Carcassin, Dastugue 1960 (39)].

a) Principe.

L'hydrolyse enzymatique du phénolphtaléine-glucuronide à + 37°C, en milieu tampon acéto-acétique de pH 7,5, libère la phénolphtaléine de façon quantitative. La coloration obtenue en milieu tampon glycolle de pH 10,45 est appréciée au photocolormètre à 550 m μ .

b) Réactifs.

- Solution tampon acéto-acétique 0,1 M de pH 4,5 : faire dissoudre dans l'eau distillée 5,785 g d'acétate de sodium cristallisé RP, ajouter 3,25 ml d'acide acétique cristallisable, compléter à 1 litre avec de l'eau distillée. Conserver à + 4°C.
- Solution tampon glycolle 0,4 M de pH 10,45.
Préparer deux solutions à conserver à + 4°C.

<u>Solution A</u> :	Glycocolle	7,505 g
	Chlorure de sodium	5,850 g
	Alcool à 80°	20 ml
	Eau distillé Q.S.	1000 ml

Solution B : Soude 0,1 N 1000 ml

Mélanger extemporanément 560 ml de solution A et 440 ml de solution B.

- Solution de substrat : mono- β -glucuronide de la phénolphtaléine 0,0005 M (P.P.G.). Faire dissoudre 12,35 mg de P.P.G. dans 50 ml d'eau distillée. Répartir en flacons de polythène et conserver à - 25°C.
- Solution d'acide trichloracétique 0,5 N. Conserver à + 4°C.
- Solution de soude 0,5 N. Conserver à + 4°C.

c) Mode opératoire.

Préparer :

- Témoin n° 1, non incubé (réglage du photocolorimètre) : 2 ml de solution tampon acéto-acétique, 1 ml de solution de substrat et 1 ml d'eau distillée. Faire incuber pendant 60 et 120 minutes dans un bain-marie réglé à + 37,5°C :
- Chaque essai (activité enzymatique) : 2 ml de solution tampon acéto-acétique, 1 ml de solution de substrat et 1 ml de préparation enzymatique.
- Témoin n° 2 (activité spontanée) : 2 ml de solution tampon acéto-acétique, 1 ml de solution de substrat et 1 ml d'eau distillée.

Au terme de l'incubation ajouter dans tous les tubes 2 ml de solution d'acide trichloracétique 0,5 N pour arrêter la réaction. Agiter, centrifuger, prélever 3 ml de surnageant et ajouter 1 ml de soude 0,5 N, compléter à 10 ml avec la solution de tampon glycocolle. Agiter et apprécier la coloration obtenue par photocolorimétrie à 550 m μ .

L'étalonnage est effectué avec une solution alcoolique de phénolphtaléine 0,0005 M, dont les volumes de 0 - 0,05 - 0,10... 0,45 - 0,50 ml additionnés de 1 - 0,95 - 0,90 ... 0,55 - 0,50 ml d'eau distillée, de 1 ml de tampon acéto-acétique et de 1 ml d'acide trichloracétique 0,5 N, sont traités comme il est indiqué ci-dessus pour le surnageant et correspondent respectivement à 0 - 10 90 - 100 p. cent d'activité.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		15		20	
	Durée de l'incubation (heures)	M	σ	M	σ
1/250	1	23,2	3,7	15,7	1,5
	2	40,2	3,0	34,0	3,5
1/500	1	11,7	2,4	6,1	3,4
	2	24,2	4,7	17,4	1,9
1/1000	1	6,4	1,9	4,4	1,3
	2	12,9	2,3	9,0	2,1
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0279	0,0052	0,0210	0,0049

Tableau n° 18 - Activité β -glucuronidasique dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs à l'éthinyl-œstradiol. (100 μ g par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (heures)	M	σ	M	σ
1/250	1	27,6	1,8	25,2	2,5
	2	45,6	3,4	44,3	4,2
1/500	1	14,0	1,4	12,7	1,7
	2	26,7	2,2	26,0	2,4
1/1000	1	7,6	1,2	6,4	1,6
	2	15,6	2,5	14,5	2,8
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0343	0,0059	0,0187	0,0064

Tableau n° 19 - Activité β -glucuronidasique dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs au lynestrénol. (2 fois 2 mg par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

III - RESULTATS.

Les résultats expérimentaux relatifs à 120 ovaires, représentant le pourcentage de scission du P.P.G., sont résumés dans les tableaux n° 18 et 19.

L'administration d'éthinyl-œstradiol provoque une baisse importante de cette enzyme ; en effet en considérant une dilution au 1/250 e et une durée d'incubation de 60 minutes, la diminution de cette activité est de 32 p. cent ; tandis que chez les Rattes traitées au lynestrénol, elle n'est que de 8 p. cent.

Ces variations sont plus importantes si nous les exprimons par rapport au poids moyen de l'ovaire frais puisque ces deux paramètres varient dans le même sens. Considérant le même temps d'incubation et la même dilution que précédemment, le traitement par l'œstrogène provoque une perte d'activité de 42 p. cent alors qu'après le lynestrénol, cette diminution est de 50 p. cent.

Nous n'avons pas relevé jusqu'à présent, dans la littérature de travaux mentionnant le comportement de cette enzyme dans l'ovaire après administration d'œstrogènes ou de progestatifs ; cependant d'autres travaux ont été réalisés afin d'étudier de telles variations dans d'autres organes. Fishman et coll. 1955 (164) avaient constaté qu'après injection de stilbœstrol à des Souris pubères, le taux de β -glucuronidase reste constant dans le rein, tandis qu'il augmente plus ou moins intensément dans la rate et dans le foie. Chez la Femme, sous l'influence d'un traitement antiovlatoire mettant en jeu un œstrogène l'éthinyl-œstradiol et un progestatif la noréthistérone, Dohrmann et coll. 1965 (140) montrèrent que l'activité β -glucuronidasique augmente considérablement dans le sang, de même que les globulines α_1 et α_2 .

CHAPITRE VIII

ACTIVITE LEUCINE AMINOPEPTIDASIQUE

La leucine aminopeptidase est une exopeptidase manifestant son action hydrolysante à l'égard de nombreux amides ou peptides ayant un groupement amine libre et une configuration L. Sa présence a été décelée dans de nombreux tissus animaux et végétaux. Des formes multiples de cette enzyme ont été décrites dans les extraits de foie humain, de pancréas, de rein, de placenta [Latner 1967 (263)].

I - DOSAGE.

L'activité leucine aminopeptidasique est appréciée suivant la technique de Goldbarg et coll 1958 (185) légèrement modifiée [Bastide 1961 (38)].

a) Principe.

In vitro, cette enzyme catalyse la réaction suivante :



La quantité de β -naphthylamine libérée est appréciée par photocolorimétrie à 560 m μ selon la technique de Bratton et coll. 1939 (60).

b) Réactifs.

- Solution tampon de phosphates 0,2 M de pH 7,0 : mélanger en proportions convenables PO₄H₂K à 27,4 g p.l. (40 ml) et PO₄H Na₂, 12 H₂O à 71,6 g p.l. (60 ml). Conserver à + 4° C.

- Solution de L-leucyl- β -naphtylamide, HCl : $3,425 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (P.M. = 292,7). Préparer une solution aqueuse de chlorhydrate de L-leucyl- β -naphtylamide à 0,2 mg par ml et mélanger à parties égales avec le tampon phosphate. Répartir en flacons de polythène ; conserver à -25° C .
- Solution aqueuse de nitrite de sodium à 0,1 p. cent. Préparer quotidiennement la solution dans l'eau distillée glacée.
- Solution aqueuse de sulfamate d'ammonium à 0,5 p. cent. Conserver à $+4^{\circ} \text{ C}$.
- Solution de chlorhydrate de N-naphtyléthylènediamine à 0,05 p. cent dans l'éthanol à 95° . Conserver à $+4^{\circ} \text{ C}$ dans des flacons en verre coloré.
- Solution d'acide trichloracétique à 15 p. cent. Conserver à $+4^{\circ} \text{ C}$.
- Solution de β -naphtylamine à $3,425 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (PM = 143,2). Préparer une solution mère : 49,04 mg de β -naphtylamine, 50 ml d'éthanol à 95° , eau distillée q.s.p. cent ml. La solution aqueuse à 4,90 mg pour 100 ml s'obtient par dilution au 1/10e de la solution mère. A préparer extemporanément.

c) Mode opératoire.

Préparer deux témoins (non incubés) :

- Témoin n° 1 (réglage du photolorimètre) : 1 ml de solution tampon phosphate et 1ml d'eau distillée.
- Témoin n° 2 (substances diazotables de la préparation enzymatique) : 1 ml de solution tampon phosphate et 1 ml de préparation enzymatique. Faire incuber pendant 30 et 60 minutes dans un bain-marie réglé à $+37^{\circ} \text{ C}$:
- Chaque essai (hydrolyse enzymatique) : 1 ml de préparation enzymatique et 1 ml de solution de substrat $3,425 \cdot 10^{-4} \text{ M}$.
- Témoin n° 3 (hydrolyse spontanée) : 1 ml d'eau distillée et 1 ml de solution de substrat $3,425 \cdot 10^{-4} \text{ M}$.

Au terme de l'incubation ajouter dans tous les tubes 1ml d'acide trichloracétique à 15 p. cent pour arrêter la réaction. Agiter, centrifuger, prélever 1 ml de surnageant et ajouter successivement à la température du laboratoire :

- 1 ml de solution de nitrite de sodium à 0,1 p. cent. Agiter, repos 3 minutes.
- 1 ml de solution de sulfamate à 0,5 p. cent. Agiter, repos 2 minutes.
- 2 ml de solution de N-naphtyléthylène diamine à 0,05 p.cent.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/500	30	34,5	8,3	26,7	7,7
	60	65,0	7,3	54,5	9,7
1/1000	30	17,5	3,7	13,6	4,6
	60	34,5	4,4	29,2	4,1
1/2000	30	6,6	1,7	6,1	2,3
	60	15,2	2,8	11,1	2,1
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0336	0,0024	0,0229	0,0023

Tableau n° 20 - Activité leucine aminopeptidasique dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs à l'éthinyl-œstradiol. (100 µg par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités	
		10		15	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ
1/500	30	37,7	3,0	25,1	3,4
	60	72,0	7,3	56,5	4,9
1/1000	30	17,4	2,0	12,1	0,9
	60	35,4	4,9	24,1	1,8
1/2000	30	7,3	0,1	4,9	0,2
	60	14,0	2,1	12,0	1,2
Poids moyen de l'ovaire (gramme)	-	0,0305	0,0061	0,0171	0,0038

Tableau n° 21 - Activité leucine aminopeptidasique dans les ovaires de Rattes pubères sacrifiées après traitement de 11 jours consécutifs au lynestrénol (2 fois 2 mg par jour, per os), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Agiter, repos 20 à 60 minutes à la température du laboratoire. Laisser la coloration se développer 30 minutes environ et effectuer la lecture au photolorimètre à 560 m μ .

L'étalonnage est effectué à l'aide de la solution de β -naphtylamine $3,425 \cdot 10^{-4}$ M dont les volumes de 0 - 0,1 0,9 - 1 ml additionnés de 1 - 0,9 0,1 - 0 ml d'eau distillée sont mis à la place du substrat et correspondent respectivement à 0 - 10... 90 - 100 p. cent d'hydrolyse.

III - RESULTATS.

Les résultats relatifs à 100 ovaires sont rapportés dans les tableaux n° 20 et 21.

Que ce soit chez les Rattes traitées à l'éthinyl-œstradiol ou au lynestrénol, nous observons une baisse de l'activité enzymatique, qui, si nous considérons une dilution au 1/2000 e et une durée d'incubation de 60 minutes, est évaluée à 26 p. cent après le traitement par l'œstrogène et à 14 p. cent après traitement par le progestatif.

Si nous exprimons l'intensité de la réaction enzymatique en μ mole de substrat métabolisé par rapport au poids moyen de l'ovaire frais, nous obtenons une diminution beaucoup plus importante qui est de 62 p. cent dans le premier cas et de 41 p. cent dans le second cas.

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES

Dans la première partie de notre travail, nous avons pu constater que le nombre d'activités enzymatiques actuellement reconnues dans l'ovaire est voisin de la soixantaine. Elles ont été identifiées, parfois appréciées quantitativement par action d'un homogénat de l'organe sur un substrat approprié. Elles ont pour la plupart été localisées avec précision mais pour certaines d'entre elles, la répartition varie avec la méthode utilisée ; cependant il ressort que c'est principalement au niveau du corps jaune et de tous les tissus produisant les stéroïdes ovariens que se situent les différentes enzymes.

Les variations relatives à l'âge et à l'espèce sont incontestables. Il en est de même des périodes d'activité et de repos liées aux différentes phases du cycle, périodes qui sont en relation avec une augmentation ou une diminution du taux des enzymes. Gestation et lactation en modifient l'activité et souvent la répartition.

Le métabolisme hormonal du tissu ovarien met en jeu des enzymes ou des systèmes enzymatiques complexes qui ne sont encore qu'imparfaitement connus. Mentionnons les stéroïdes déhydrogénases, en particulier la 3- β -hydroxy, qui agit en corrélation avec la Δ^4 Δ^5 isomérase à quatre niveaux différents lors de la biosynthèse des stéroïdes ovariens.

Les principaux catabolismes (glucidique, lipidique, protidique) font intervenir une chaîne d'enzymes dont les maillons se révèlent progressivement : phosphorylase, glycéraldéhyde phosphate déhydrogénase dans le cycle d'Embden Meyerhoff, citrate, malate et succinate déhydrogénases dans le cycle de Krebs.

Au cours de différents états pathologiques, le métabolisme ovarien est perturbé : ainsi une carence en acide ascorbique diminue l'activité phosphatasique alcaline, alors que lors d'une carence en pyridoxine, le taux de cette enzyme augmente. L'irradiation des tissus ovariens, la présence de tumeurs bénignes et malignes font varier le taux de certaines enzymes ; il en est de même de nombreux agents chimiques, en particulier les gonadotrophines et les composés à noyaux stéroïde.

Dans la partie expérimentale de notre travail, nous nous sommes efforcée de faire ressortir les incidences du blocage de l'ovulation, tant par l'éthinyl-œstradiol que par le lynestrénol sur les enzymes ovariennes de Rattes pubères afin d'approfondir l'étude des effets d'une telle thérapeutique qui met au repos l'ensemble des fonctions ovariennes tant exocrines qu'endocrines.

Nous allons reprendre les résultats obtenus pour chaque enzyme étudiée en exprimant les variations de son activité par rapport au poids moyen de l'ovaire ce qui permettra sans doute une comparaison meilleure avec ceux obtenus par les histologistes.

Activités enzymatiques étudiées	Animaux traités par l'éthinyl-œstradiol	Animaux traités par le lynestrénol
Lactate déhydrogénase	- 43 p. cent	- 77 p. cent
Glucose-6-phosphate déhydrogénase	- 44 p. cent	- 78 p. cent
Aliestérases	- 35 p. cent	- 35 p. cent
Lipase	- 35 p. cent	- 37 p. cent
Phosphatase acide	- 11 p. cent	- 41 p. cent
Phosphatase alcaline	-	- 22 p. cent
β -glucuronidase	- 42 p. cent	- 50 p. cent
Leucine aminopeptidase	- 62 p. cent	- 41 p. cent

Les résultats indiqués ci-dessus permettent de constater qu'après blocage de l'ovulation, les activités enzymatiques subissent une variation de même sens. En effet, elles diminuent de façon plus ou moins accentuées ; cependant le taux de la phosphatase alcaline après administration d'éthinyl-œstradiol ne semble pas varier. Il faut remarquer que le métabolisme glucidique est beaucoup plus affecté après lynestérol, tandis que l'activité leucine

aminopeptidasique diminue plus intensément après éthinyl-œstradiol et que, pour les lipases et les aliesterases, la variation est la même quelle que soit la substance expérimentée.

Les résultats obtenus pour la 3- β -hydroxystéroïde NAD oxyréductase ne figurent pas sur le tableau précédent puisque la méthode d'étude de cette enzyme a été un peu différente. Les résultats obtenus varient selon les points de comparaison choisis : si nous exprimons l'activité 3- β -ol déhydrogénasique en μg de Δ^4 androstène-dione formés par minute chez un animal, nous obtenons les résultats suivants :

Proœstrus	6,9 μg
Œstrus	6,3 μg
Dioœstrus	8,0 μg
Traités éthinyl-œstradiol	7,5 μg
Traités lynestrénol	6,3 μg

Nous ne reviendrons pas sur les variations de l'activité enzymatique selon les différentes phases du cycle ; nous remarquerons seulement que le taux de stéroïde déhydrogénase chez les animaux traités au lynestrénol est égal à celui des Rattes témoins en œstrus ; après traitement par l'éthinyl-œstradiol, l'activité enzymatique est supérieure à celle des animaux en proœstrus et en œstrus tout en restant inférieure à celle des animaux en dioœstrus ; cependant ces variations ne sont pas très nettes.

De l'étude histo-enzymologique il ressort une modification dans la localisation et dans l'intensité de la réaction 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductasique, mais nous n'avons pas jusqu'à présent, poussé encore assez loin ces investigations pour nous permettre de conclure.

En raison de l'importance de cette enzyme dans le métabolisme hormonal, il serait intéressant d'examiner l'influence d'un blocage prolongé de la fonction ovarienne ce qui permettrait, peut être, de voir s'accentuer des variations à peine amorcées. De plus les substances expérimentées interfèrent avec les systèmes enzymatiques en différents points du métabolisme endocrinien; hypophyse et ovaire y jouent des rôles étroitement interdépendants, rôles qui s'inscrivent dans le cycle des grandes corrélations physiologiques.

Outre ces activités enzymatiques, nous avons étudié les variations du taux des protéines totales, de l'A.D.N., de

l'A.R.N.. Si le taux des acides nucléiques ne semble pas varier, il n'en est pas de même de celui des protéines totales qui diminue de 16 p. cent après lynestrénol tandis qu'il reste constant après éthinyl-œstradiol.

Au cours de notre expérimentation nous avons pu observer certains effets secondaires déjà signalés par quelques auteurs, à savoir une légère diminution du poids des animaux et une involution très nette des gonades femelles que nous avons évaluée, pour des Rattes Wistar à 31 p. cent après éthinyl-œstradiol et à 48 p. cent après lynestrénol. Nous devons encore signaler que chez certains animaux de souche Wistar il est apparu une alopécie plus prononcée avec le progestatif qu'avec l'œstrogène.

Nous savons d'autre part combien il est difficile et parfois dangereux de vouloir appliquer en clinique humaine les résultats obtenus chez l'animal.

De nombreuses recherches restent à entreprendre afin de parfaire notre connaissance du mécanisme d'action des antiovlatoires, non seulement sur l'ovaire et la sphère génitale mais encore sur la physiologie générale de l'organisme .

Vu,

Clermont-Ferrand le 3 Avril 1968

Le Président du Jury,

G. DASTUGUE

Vu et Permis d'Imprimer n° Ph 2/68

Clermont-Ferrand le 5 Avril 1968

Le Doyen de la Faculté mixte
de Médecine et de Pharmacie

G. MEYNIEL

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - AAKVAAG A., EIK-NES K.B. - Biochim. Biophys. Acta, 1964, 86, 380-389.
- 2 - AAKVAAG A., HAGEN A.A., EIK-NES K.B. - Biochim. Biophys. Acta, 1964, 86, 622-627.
- 3 - ABDERHALDEN E., ABDERHALDEN R. - Fermentforschung, 1942, 16, 445-457.
- 4 - ABE T., KANEKO T., OTSUKA J., HOSODA T. - Poultry Sci. U.S.A., 1962, 41, 1447-1453.
- 5 ARATA L., SANTORO R., SEVERI M.A., PECORA P. - Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 1962, 38, 212-214.
- 6 - ARATA L., SANTORO R., SEVERI M.A., PECORA P. - Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 1962, 38, 215-217.
- 7 - ARATA L., SEVERI M.A., PECORA P. - Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 1962, 38, 358-360.
- 8 - AREZZI-BOZA E. - Minerva Ginec., 1964, 16, 809-815.
- 9 - ARMSTRONG D.T. - Endocrinology, 1963, 72, 908-911.
- 10 - ARVY L. - C.R. Acad. Sci. (Paris), 1949, 228, 1983-1985.
- 11 - ARVY L. - Arch. Biol. (Liège), 1950, 61, 187-195.
- 12 - ARVY L. - C.R. Ass. Anat. (Gênes), 1954, 12, 836-847.
- 13 - ARVY L. - C.R. Ass. Anat. (Lisbonne), 1956, 43, 156-164.
- 14 - ARVY L. - C.R. Soc. Biol., 1959, 248, 3627-3629.
- 15 - ARVY L. - Z. Zellforsch., 1960, 51, 406-420.
- 16 - ARVY L. - Histoenzymologie des glandes endocrines, Gauthier - Villars ed., Paris, 1963.
- 17 - ARVY L., GABE M. - Arch. Biol., 1953, 64, 113-131.
- 18 - ARVY L., MAULEON P. - C.R. Soc. Biol., 1964, 158, 453-457.
- 19 - ARVY L., MAULEON P. - C.R. Soc. Biol., 1965, 159, 2171-2175.
- 20 - AXELROD L.R., GOLDZIEHER J.W. - Arch. Biochem. Biophys., 1961, 91, 547-548.

- 21 - AXELROD L.R., GOLDZIEHER J.W. - J. Clin. Endocr., 1962, 22, 431-440.
- 22 - AXELROD L.R., GOLDZIEHER J.W. - Acta Endocr., 1965, 118, 392-412.
- 23 - BAILLIE A.H. - J. Endocr., 1965, 32, 337-339.
- 24 - BAILLIE A.H., CALMAN K.C., FERGUSON M.M., HART Mc K - J. Endocr., 1966, 34, 1-12.
- 24 bis - BAILLIE A.H., FERGUSON M.M., HART Mc K. - Developments in steroid histochemistry, Acad. Press, London, N.Y., 1966, 1 vol., 186 p.
- 25 - BAKER B.L., KAHN R.H., BESSEMER D. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1965, 119, 527-531.
- 26 - BALDRATTI G., ACERBI A., ARCARI G., RAGAZZI P., SUCHOWSKI G.K. - J. Eur. Steroïdes, 1967, 2, 33-44
- 27 - BALESTRI F. - Riv. Ostet. Ginec., 1961, 16, 210-212.
- 28 - BALL J., KADIS B. - Arch. Biochem. Biophys., 1965, 110, 427-431.
- 29 - BALOGH K. - J. Histochem. Cytochem., 1964, 12, 670-673.
- 30 - BALOGH K., KIDWELL W.R., WIEST W.G. - Endocrinology, 1966, 78, 75-81.
- 31 - BANERJEE S., GHOSH S.K. - Proc. Natl. Inst. Sci. India, 1963, 29, 225-238.
- 32 - BANON P. - Acta Cytol., 1964, 8, 416-425.
- 33 - BARA G. - Experientia, 1965, 21, 638-640.
- 34 - BARA G. - Gen. Comp. Endocr., 1965, 5, 284-296.
- 35 - BARRACLOUGH C.A. - J. Endocr., 1962, 24, XIX.
- 36 - BARNETT J.R. - Anat. Rec., 1952, 114, 577-600.
- 37 - BARTELLI P.V., LEONI R., LO STUMBO F. - Riv. Ostet. Ginec., 1960, 15, 675-685.
- 38 - BASTIDE P. - Thèse Doct. Etat Médecine, Clermont-Ferrand, de Bussac ed., 1961.
- 39 - BAUDON J., BASTIDE P., CARCASSIN M., DASTUGUE G. - Path. Biol., 1960, 8, 487-492.
- 40 - BERGER L., BROIDA D. - Sigma Tech. Bull., 1958, 500, 165-168.
- 41 - BERGMAN S., BJERSING S., NILSSON O. - Acta Pathol. Microbiol. Scand. 1966, 68, 461-462.
- 42 - BERNSTORF R.C. - Anat. Rec., 1959, 133, 362-363.
- 43 - BERTOLOTTI E., LOJODICE G. - Minerva Dictol., 1962, 2, 123-130.
- 44 - BESSEY O.A., LOWRY O.H., BROCK M.J. - J. Biol. Chem., 1946, 164, 321-329.
- 45 - BEYLER A.L., SCHAD J.S., ARNOLD A. - Proc. Soc. Exper. Biol. N.Y. 1956, 92, 656-660.

- 46 - BIDDULPH C., MEYER R.K., Mc SHAN W.H. - Endocrinology, 1946, 38, 358-367.
- 47 - BIDDULPH C., SAN MARTIN M., BECKER S.C., Mc SHAN W.H. - J. Endocr., 1959, 18, 125-131.
- 48 - BIELANSKA-OSUCHOWSKA Z. - Folia Morphol., 1965, 24, 363-379.
- 49 - BJERSING L., CARSTENSEN H. - Biochim. Biophys. Acta, 1964, 86, 639-640.
- 50 - BLOCH E. - Endocrinology, 1964, 74, 833-845.
- 51 - BLOCH E. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1965, 119, 449-452.
- 52 - BONTKE E. - Les fonctions de nidation utérines et leurs troubles, Masson ed., Paris, 1960, 269.
- 53 - BONTKE E. - Histochemie, 1964, 4, 56-64.
- 54 - BORGHESE E. - Symposia Genetica Biol. Ital., 1957, 5, 131-140.
- 55 - BOTTE V. - Rend. Inst. Sci. Camerino, 1963, 4, 205-209.
- 56 - BOTTE V., DEL BIANCO C. - Arch. Ostet. Ginec., 1962, 67, 653-665.
- 57 - BRADFIELD J.R. - Nature, 1946, 157, 876-877.
- 58 - BRANDAU H., LUH W. - Acta Endocr., 1964, 46, 580-596.
- 59 - BRANDAU H., LUH W. - Arch. Gynaek., 1965, 200, 407-420.
- 60 - BRATTON A.C., MARSHALL E.K. - J. Biol. Chem., 1939, 128, 537-560.
- 61 - BREUER H., GRILL P. - Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., 1961, 324, 254-261.
- 62 - BREUER H., NOCKE L., PECHTHOLD D. - Z. Vitamin Hormon Fermentforsch., 1959, 10, 106-115.
- 63 - BRIZZI G., DE JORIO A., TENORE A. - Rass. Med. Sper., 1965, 12, 215-219.
- 64 - BRONZETTI P., MILIO G. - Atti. Soc. Ital. Sci. Vet., 1963, 17, 428-432.
- 65 - BRONZETTI P., MILIO G. - Biol. Lat. Milano, 1963, 16, 349-384.
- 66 - BROWN W.E., BRADBURY J.T., JENNINGS A.F. - J. Clin. Endocr., 1948, 8, 453-460.
- 67 - BRUZZONE S., BRANCATELLI A. - Exerpta Medica, 1962, Abstract 239 a.
- 68 - BRUZZONE S., BRANCATELLI A. - Experta Medica, 1962, Abstract 239 b.
- 69 - BRUZZONE S., BRANCATELLI A. - Exerpta Medica, 1962, 51, 185.
- 70 - BRUZZONE S., BRANCATELLI A. - Nature, 1962, 195, 810-811.
- 71 - BRUZZONE S., BRANCATELLI A. - Endocrinology, 1965, 7, 423-427.
- 72 - BRYSON M.J., KAISER I.H., SWEAT M.L. - Minerva Med., 1963, 46, 1235-1238.
- 73 - BULMER D. - J. Endocr., 1963, 26, 171-172.
- 74 - BULMER D. - Anat. Rec., 1964, 149, 699-706.
- 75 - BULMER D. - J. Anat. 1964, 98, 27-36.

- 76 - BULMER D. - Acta Anat., 1965, 62, 254-265.
- 77 - BULMER D. - J. Histochem. Cytochem., 1965, 13, 396-403.
- 78 - BULMER D. - J. Roy. Micr. Soc., 1965, 84, 189-198.
- 79 - BUNO W., GERMINO N.I. - Acta Anat., 1958, 33, 161-174.
- 80 - BUNO W., HEKIMIAN L. - An. Fac. Med. Montevideo, 1950, 40, 42-62.
- 81 - CABAUD P.G., WROBLEWSKY F. - Ann. J. Clin. Path., 1958, 30, 234-238.
- 82 - CALLANTINE M.R., HUMPHREY R.R., LEE S.H. - Endocrinology, 1965, 76, 226-239.
- 83 - CAPRIA V., RIGANO A. - Clin. Ginec., 1960, 2, 133-147.
- 84 - CAREDDU C. - Studi Sassaresi Sezione, 1963, 41, 442-448.
- 85 - CASTELLA BERTRAN E. - An. Fac. Vet. (Madrid), 1950, 2, 58-63.
- 86 - CASTELLA BERTRAN E. - An. Fac. Vet. (Madrid), 1952, 4, 352-359.
- 87 - CASTELLA BERTRAN E. - An. Fac. Vet. (Madrid), 1952, 4, 402-590.
- 88 - CASTELLA BERTRAN E., SANZ SANCHEZ F. - An. Fac. Vet. (Madrid), 1951, 3, 67-77.
- 89 - CEDARD L. - Path. Biol., 1965, 13, 325-338.
- 90 - CERLETTI P., ZICHELLA L. - Clin. Chim. Acta, 1961, 6, 581-582.
- 91 - CHANNING C.P., VILLEE C.A. - Biochim. Biophys. Acta, 1966, 115, 205-218.
- 92 - CHELI R. - Acta Med. Vet., 1957, 3, 379-391.
- 93 - CRESSICK R.D. - J. Histochem. Cytochem., 1953, 1, 471-485.
- 94 - CHEVALLIER G. - La Presse Médicale, 1967, 75, 533-538.
- 95 - CHIEFFI G., BOTTE V. - Experientia, 1965, 21, 16-17.
- 96 - CHIEFFI G., DE LAURENTIS G. - Riv. Ostet. Ginec., 1960, 15, 365-373.
- 97 - CHIEFFI G., FORLEO R., TROPEA P.F. - Riv. Ostet. Ginec., 1960, 15, 446-463.
- 98 - CHIEFFI G., LA TORETTA G., DEL BIANCO C., TRAMONTANA S. - Arch. Ostet. Ginec., 1965, 70, 492-500.
- 99 - CHIEFFI G., MATERAZZI G., BOTTE V. - Atti. Soc. Peloritano Sci. Fis. Mat. Nat., 1964, 10, 515-520.
- 100 - CLEASSON L., HILLARP N.P. - Acta Physiol. Scand., 1947, 14, 102-115.
- 101 - COHEN R.B., TSOU K.C., RUTENBURG S.H., SELIGMAN A.M. - J. Biol. Chem., 1952, 195, 239-249.
- 102 - COLETTA A., FRIGERI E., PERSICO M. - Arch. Ostet. Ginec., 1963, 68, 94-112.
- 103 - CONCHIE J. - J. Physiol., 1957, 139, 20P-21P.
- 104 - CONCHIE J., FINDLAY J. - J. Endocr., 1959, 18, 132-146.
- 105 - CONCHIE J., FINDLAY J., LEVY G.A. - Nature (London), 1956, 178, 1496.
- 106 - CONCHIE J., FINDLAY J., LEVY G.A. - Biochem. J., 1959, 71, 318-325.

- 107 - CORNER G.W. - Science, 1944, 100, 270-271.
- 108 - CORNER G.W. - Contrib. Embryol., 1948, 212, 1-7.
- 109 - COTTAFABI M. - Minerva Ginec., 1956, 8, 392-396.
- 110 - COURRIER R. - Path. Biol., 1965, 13, 927.
- 111 - DALE W.H. - Biochem. J., 1940, 37, 1367-1373.
- 112 - DAMAS D. - C.R. Acad. Sci. (Paris), 1964, 258, 1895-1897.
- 113 - DASTUGUE G. - (à paraître) 1968.
- 114 - DASTUGUE G., BASTIDE P., RENARD M.P. - C.R.Soc. Biol., 1966, 160, 2318-2321.
- 115 - DAS R.P., MURTI C.R., KAR A.B. - J. Sci. Industr. Res. (Biol.), 1961, 20c, 259-261.
- 116 - DAVENPORT G.R., MALLETT L.E. - Endocrinology, 1966, 78, 672-678.
- 117 - DAVID J., DASTUGUE G., THIEBLOT L., BASTIDE P. - C.R. Soc. Biol., 1960, 154, 2276-2278.
- 118 - DEANE H.W. - Amer. J. Anat., 1952, 91, 363-413.
- 119 - DEANE H.W., LOBEL B.L., DRIKS E.C., RUBIN B.L. - Ann. Histochem., 1961, 6, 283-291.
- 120 - DEANE H.W., LOBEL B.L., ROMNEY S.L. - Amer. J. Obstet. Gynec., 1962, 83, 281-294.
- 121 - DEB C., BANERJEE C. - Proc. Natl. Inst. Sci. India, 1957, 23, 1-7.
- 122 - DE BRUX J. - La Presse Médicale, 1966, 74, 1221.
- 123 - DE CECCO L., ROLFINI G., PAVONE G. - Quad. Clin. Ostet. Ginec., 1961, 16, 991-998.
- 124 - DECOURT J., MAUVAIS-JARVIS P. - Bull. Acad. Nation. Médecine, 1965, 149, 288-298.
- 125 - DE JORIO A., TENORE A., BRIZZI G. - Rass. Med. Sper., 1965, 12, 146-150.
- 126 - DE JORIO A., TENORE A., BRIZZI G., MAGRI E. - Rass. Med. Sper., 1965, 12, 220-223.
- 127 - DELSOL E., CHAUX A. - C.R.Soc. Biol., 1954, 148, 1180.
- 128 - DE NICOLA M. - Quart. J. Micr. Sci., 1949, 90, 391-400.
- 129 - DELFORGE J.P., SCHIPPERS M. - Acta Anat., 1965, 61, 355-378.
- 130 - DEMPSEY E.W. - Recent Progress in Hormone Research, 1948, 3, 127-157.
- 131 - DEMPSEY E.W., GREEP R.O., DEANE H.W. - Endocrinology, 1949, 44, 88-103.
- 132 - DESAULES P.A., KRAHENBULH C. - Acta Endocr., 1964, 47, 444.
- 133 - DHANDA M.R., SHARMA G.L., BHALLA R.G. - Indian V.J., 1961, 38, 122-129.
- 134 - DHOM G., MENDE H.J. - Arch. Path. Anat., 1956, 328, 337-346.
- 135 - DIMITRIU C., ARATEI H., SAICIVE C. - Rev. Roumaine Embryol. Cytol. Ser. Cytol., 1965, 1, 73-79.

- 136 - DISCHE Z., in CHARGAFF S., DAVIDSON J.N. - The Nucleic Acids, Acad. Press, N.Y., 1955, 1, 285-305.
- 137 - DOCKE F., DORNER G. - Abhandl. Deut. Akad. Wiss. Berlin Kl. Med., 1965, 1, 183-186.
- 138 - DOCKE F., DORNER G. - J. Endocr., 1965, 33, 491-499.
- 139 - DORFMAN R.I. - Proc. Intern. Congr. Biochem., 4th Congr. Vienna, 1958, 4, 175-195 (Pub. 1959).
- 140 - DOHRMANN R.E., GIFFELS G. - Med. Clin., 1965, 60, 1844-1847.
- 141 - DORRINGTON J.H., KILPATRICK R. - Biochem. J., 1967, 104, 725-730.
- 142 - ECKSTEIN B. - Endocrinology, 1963, 72, 777-781.
- 143 - ECKSTEIN B., LANDSBERG R. - Acta Endocr., 1963, 42, 480-484.
- 144 - ECKSTEIN B., PASTER Z. - Acta Endocr., 1965, 49, 379-387.
- 145 - ECKSTEIN B., SHAIN H. - Acta Endocr., 1963, 42, 389-394.
- 146 - EIK-NES K.B. - Physiol. Rev., 1964, 144, 609-630.
- 147 - EDGREN R.A. - Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y., 1960, 34, 213-215.
- 148 - Enzyme Nomenclature. Recommendations 1964 of the International Union of Biochemistry. Elsevier publishing company, Amsterdam, London, N.Y., 1965.
- 149 - ERASMUS D.A. - Parasitology (G.B.), 1957, 47, 70-80.
- 150 - ERASMUS D.A. - Parasitology (G.B.), 1957, 47, 81-91.
- 151 - FALCK B. - Acta Endocr., 1953, 12, 115-122.
- 152 - FANARD A. - Journées scientifiques du 21 mars 1965 (Cercle scientifique des anciens élèves de l'Institut A. Gilkinet, Liège), 159-169.
- 153 - FERGUSSON M.M. - J. Endocr., 1965, 32, 365-371.
- 154 - FERGUSSON M.M. - Histochemie, 1966, 6, 185-186.
- 155 - FERGUSSON M.M., BAILLIE A.M., CALMAN K.C., HART Mc K.- Nature (London), 1966, 201, 1277-1279.
- 156 - FERIN J. - Acta Endocr., 1962, 39, 47-67.
- 157 - FERIN J. - Semaine des Hôpitaux, 1964, 40, n° 42, 2337-2340.
- 158 - FINOCCHIO F., LOMBARDO N., LO SARDO G. - Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 1956, 32, 1382-1385.
- 159 - FINOCCHIO F., LO SARDO G. - Boll. Lat. Milano, 1958, 11, 572-592.
- 160 - FISHMAN W.H. - J. Biol. Chem., 1940, 136, 229-236.
- 161 - FISHMAN W.H. - Advance Enzymol., 1955, 16, 361-409.
- 162 - FISHMAN W.H., ANLYAN A.J. - Cancer Res., 1947, 7, 808-817.
- 163 - FISHMAN W.H., BAKER J.R. - J. Histochem. Cytochem., 1956, 4, 570-587.
- 164 - FISHMAN W.H., FARMELANT M.H. - Endocrinology, 1955, 52, 536-545.
- 165 - FISHMAN W.H., KASDON C., HOMBURGER H. - J. Am. Med. Assoc., 1950, 143, 350-354.

- 166 - FLEURY P., EBERHARD R. - Ann. Biol. Clin., 1951, 9, 453.
- 167 - FORAKER A.G., CELI A.P., DENHAM S.W. - J. Histochem. Cytochem., 1953, 1, 376-377.
- 168 - FORAKER A.G., DENHAM S.W. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, 80, 132-134.
- 169 - FORAKER A.G., DENHAM S.W., JOHNSTON M.H. - A.M. Arch. Path., 1953 55, 147-153.
- 170 - FORAKER A.G., DENHAM S.W., MITCHELL D. - J. Obstet. Gynaec., 1955, 62, 447-451.
- 171 - FORAKER A.G., ZAMARIEGO CRESPO J. - Fertility Sterility, 1961, 12, 425-433.
- 172 - FORCHIELLI E., DORFMAN R.I. - J. Biol. Chem., 1956, 223, 443-448.
- 173 - FORD D.H., HIRSCHMAN A. - Anat. Rec. U.S.A., 1955, 121, 531-547.
- 174 - FORLEO R., COLLINS W.P. - Acta Endocr., 1964, 46, 265-278.
- 175 - FORLEO R., INGIULIA M. - Research on Steroids, 1964, 1, 335-339.
- 176 - FRIED R., WUST L. - Naturwissenschaften, 1954, 41, 238.
- 177 - FRIEDENWALD J.S., BECKER B. - J. Cell. Comp. Physiol., 1948, 31, 303-309.
- 178 - FUHRMANN K. - Arch. Gynäk., 1963, 197, 583-600.
- 179 - FUJII K., HASHIGUCHI A., KUMASAKA T. - Nippon Funin Gakkai Zasshi, 1965, 10, 135-150.
- 180 - GARZON J.A. - Acta Gynec., 1951, 2, 199-206.
- 181 - GASTALDI A., DI FRANCESCO G. - Ann. Ostet. Gynec., 1961, 83, 425-435.
- 182 - GENESI M. - Minerva Gynec., 1953, 5, 302-313.
- 183 - GLICK D., LEWIN A., ANTROPOL W. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1939, 40, 28.
- 184 - GLOCK G.E., Mc LEAN P. - Biochem. J., 1954, 56, 171-175.
- 185 - GOLDBARG J.A., RUTENBURG A.M. - Cancer, 1958, 11, 283-291.
- 186 - GOLDBERG B. - J. Histochem. Cytochem., 1964, 12, 880-889.
- 187 - GOLDBERG B., JONES G.E., TURNER D.A. - Amer. J. Obstet. Gynec., 1963, 86, 349-359.
- 188 - GOLDMAN A.S., YOKAVAC W.C., BONGIOVANNI A.M. - Endocrinology, 1965, 77, 1105-1118.
- 189 - GOLDMAN A.S., YOKAVAC W.C., BONGIOVANNI A.M. - J. Clin. Endocr., 1966, 26, 14-22.
- 190 - GOMORI G. - J. Cell. Comp. Physiol., 1941, 17, 71-84.
- 191 - GOMORI G. - Arch. Path., 1946, 41, 121-129.
- 192 - GOOD L., WARNICK A.C., WALLACE H.D. - Animal Science, 1965, 24, 955-958.
- 193 - GORSKI J., PADNOS D. - Arch. Biochim. Biophys., 1966, 113, 100-106.

- 194 - GOSPODAROWICZ D. - Acta Endocr., 1964, 47, 293-305.
- 195 - GOULD R. P., HOLT S. J. - J. Physiol. (G.B.), 1961, 155, 36P-37P.
- 196 - GRANGAUD R., NICOL M., LE GALL S. Y., DE LAUNAY J. - Arch. Sci. Physiol., 1966, 20, 123-133.
- 197 - GREENWALD G. S. - Acta Endocr., 1964, 47, 10-14.
- 198 - GRIETEN G. - C.R. Soc. Biol., 1955, 149, 826-828.
- 199 - HADEK R. - Amer. J. Vet. Res., 1958, 19, 873-881.
- 199 bis - HADJIISKY P., WEGMANN R. - C.R. Ass. Anat., 1967, 138, 639-644.
- 200 - HAMMARSTEIN J., RICE B. F., SAVARD K. - J. Clin. Endocr. Metab., 1964, 24, 597-605.
- 201 - HANNIBAL M. J., NACHLAS M. M., SELIGMAN A. M. - Cancer, 1960, 13, 1008-1016.
- 202 - HARPER H. A. - Précis de Biochimie, Presses de l'Université Laval, Québec, Librairie Armand Colin, Paris, 1965, 406-410.
- 203 - HAYASHI M. - J. Hystochem. Cytochem., 1964, 12, 659-669.
- 204 - HAYNES R. G. - J. Biol. Chem., 1958, 233, 1220.
- 205 - HAZARD R., CHEYMOL J., LEVY J., BOISSIER J. R., LECHAT P. - Manuel de Pharmacologie, Masson ed., 1963, 444-445.
- 206 - HEBERT J., VERNE J. - C.R. Ass. Anat., 1952, 73, 343-344.
- 207 - HERSHBERGER L. G., SHIPLEY E. G., MEYER R. K. - Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y., 1953, 83, 175.
- 208 - HESS R., SCARPELLI D. G., PEARSE A. G. E. - J. Biophys. Biochem. Cytol., 1958, 4, 753-756.
- 209 - HIMMELMOCH S. R., KARNOVSKY J. - J. Biophys. Biochem. Cytol., 1961, 9, 573-581.
- 210 - HOLMES R. L., MANDL A. M. - J. Endocr., 1962, 24, 497-515.
- 211 - HUANG W. Y., PEARLMAN W. H. - J. Biol. Chem., 1962, 237, 1060-1065.
- 212 - HUGGINS C., MOULTON H. M. - J. of Exper. Med., 1948, 80, 169-179.
- 213 - HUNTER R. L., KNEISKE K. M. - J. Histochem. Cytochem., 1957, 5, 154-158.
- 214 - HUSSON R. - Ann. Sci. Nat., 1953, 15, 361-370.
- 215 - IKONEN M., NIEMI M., PESONEN S., TIMONEN S. - Acta Endocr., 1961, 38, 293-302.
- 216 - ISHIDA K. - Tohoku J. Agr. Res., 1954, 4, 133-138.
- 217 - ISHIDA K. - Nippon Naibampi Gakkai Zasshi, 1965, 40, 1345-1357.
- 218 - ISHIDA K., CHANG M. C. - J. Histochem. Cytochem., 1965, 13, 470-475.
- 219 - JANATA J., SRARKA L., LOJDA Z. - Cas. Lek. Ces., 1965, 30, 812-816.
- 220 - JAVILLIER M., POLONOVSKI M., FLORKIN M., BOULANGER P., LEMOIGNE M., ROCHE J., WURMSER R. - Traité de Biochimie générale, Masson ed., Paris, 1964, tome II.

- 221 - JIRASEK J. - Arch. Gynaëk., 1961, 196, 359-364.
- 222 - JOLY J. - C.R. Soc. Biol., 1965, 261, 1569-1571.
- 223 - JONEK J., ZIELINSKI Z. - Endocrinol. Pol., 1966, 17, 551-555.
- 224 - JONEK J., ZIELINSKI Z., BARANOWSKI Z., DENTK J. - Acta Histochem., 1965, 25, 364-373.
- 225 - JUNG G. - Arch. Gynäek., 1959, 193, 284-287.
- 226 - JUNG G. - Geburtsh. Frauen Keilt, 1962, 22, 960-964.
- 227 - JUNG G. - Fortschr. Medd., 1964, 82, 735-738.
- 228 - JUNG G. - Bibl. Gynäek., 1965, 23, 1-76.
- 229 - JUNG G., HELD H. - Arch. Gynäek., 1959, 192, 146-150.
- 230 - JUNG G., KIDESS E. - Arch. Gynäek., 1959, 192, 151-154.
- 231 - JUNG G., KIDESS E. - Arch. Gynäek., 1962, 196, 457-462.
- 232 - JUNG G., KONIG P.A. - Enzymes des Ovaires, Karger ed., Bâle, 1965.
- 233 - JUNKMAN K. - Internist, 1964, 5, 237.
- 234 - KABRA J.G., CHATURVERI R.P., UJWAL Z.S. - Indian J. Med. Res., 1967, 55, 279-283.
- 235 - KADIS B. - Biochim. Biophys. Acta, 1964, 82, 649-651.
- 236 - KADIS B. - Biochemistry, 1966, 5, 3604-3608.
- 237 - KAISER J. - Acta Endocr., 1964, 47, 676-688.
- 238 - KAR A.B. - Proc. Natl. Inst. Sci. India, 1950, 16, 43-45.
- 239 - KAR A.B. - Proc. Natl. Inst. Sci. India, 1950, 16, 177-180.
- 240 - KAR A.B., GHOSH A., CHAKRAVORTY A.P. - Indian J. Physiol. and Allied Sci., 1952, 6, 71-76.
- 241 - KAR A.B., KAMBOJ V.P., DAS R.P. - J. Sci. Ind. Res., 1962, 21 e, 231-237.
- 242 - KASE N. - Amer. J. Obstet. Gynec., 1964, 15, 1268-1273.
- 243 - KASWIN A., SERFARY A. - C.R. Soc. Biol., 1945, 139, 1070-1072.
- 244 - KAUFFOLD P. - Naturwissenschaften, 1965, 52, 593.
- 245 - KAULLA K.N., SHETTLES L.B. - Klin. Wochschr., 1954, 32, 468-472.
- 246 - KIDWELL W.R., BALOGH K., WIEST W.G. - Endocrinology, 1966, 79, 352-361.
- 247 - KNIGGE K.M., LEATHEM J.H. - Anat. Rec., 1956, 124, 679-698.
- 248 - KNUTSON F., RYBO G., ANBERG A. - Acta Obstet. Gynec. Scandinavica, 1965, 44, 325-338.
- 249 - KONIG P.A. - Bibl. Gynäek., 1965, 34, 77-203.
- 250 - KONIG P.A. - Gynaecologia, 1965, 159, 107-124.
- 251 - KONIG P.A., STIER R. - Arch. Gynäek. Dtsch., 1963, 197, 561-572.

- 252 - KORNBERG A., HORECKER B.L. - Methods in Enzymology, Acad. Press, N. Y., 1955, 1, 323.
- 253 - KRISHNAMOORTHY K. P. - J. Zool. Soc. India, 1959, 11, 35-38.
- 254 - KRUGELIS E.J. - Biol. Bull., 1947, 93, 209.
- 255 - KRUGELIS E. J. - Biol. Bull., 1947, 93, 209.
- 256 - KRUGELIS E.J. - Biol. Bull., 1947, 93, 215.
- 257 - KUGLER O. E. - J. Histochem. Cytochem., 1953, 5, 296-304.
- 258 - KULKA R.G., DUKSIN D. - Biochim. Biophys. Acta, 1964, 91, 506-514.
- 259 - KURATA K. - Shikoku Igaku Zasshi, 1958, 12, 312-343.
- 260 - KYUBAR K.B. - Leitvos T. S. R. Aukstriju Mokyklu Mokslo Darbai Med., 1964, 5, 319-322.
- 261 - LAMB E.J. - Calif. Med., 1965, 103, 34-47.
- 262 - LAMPRECHT S., LINDNER H.R., RUBIN B. L., ZMIGROD A. - Biochim. Biophys. Acta, 1966, 124, 267-272.
- 263 - LATNER A. L. - Advanc. Clin. Chem., 1967, 9, 69-163.
- 264 - LEVY G.A. - Nature (London), 1960, 187, 1027.
- 265 - LEVY G.A., DEANE H.W., RUBIN B. L. - Endocrinology, 1959, 65, 932-943.
- 266 - LEVY G.A., DEANE H.W., RUBIN B. L. - J. Histochem. Cytochem, 1959, 7, 320.
- 267 - LEVY G.A., Mc ALLAN A., HAY A.J. - J. Endocr., 1961, 23, 19-24.
- 268 - LICHTFUS C., PUNDEL J. P., GANDAR P. - Bul. Fed. Soc. Gyn. et Obstet., 1957, 9, 644.
- 269 - LOBEL B. L., ROSENBAUM R. M., DEANE H. W. - Endocrinology, 1961, 68, 332-347.
- 270 - LORINCZ A. L., NOVELLI J., Mc COOGAN L. S., ODELL L. D. - Amer. J. Obstet. Gynec., 1951, 61, 527-538.
- 271 - LO STUMBO F. - Riv. Ostet. Ginec., 1960, 15, 437-445.
- 272 - LO STUMBO F., RIO F., SERRA E. - Riv. Ostet. Ginec., 1960, 15, 738-750.
- 273 - LUH W., BRANDAU H. - Z. Geburtshilfe Gynäek., 1964, 162, 113-132.
- 274 - MACARINI N., PIPINO G., VASSALO E. - Minerva Fisioter, 1959, 4, 149-154.
- 275 - MAHESH V. B., GREENBLATT B. B., AYDA C. K., ROY S. - Fertility Sterility, 1962, 13, 513-530.
- 276 - MALATY M. A., BOURNE G. H. - Acta Anat., 1954, 21, 249-258.
- 277 - MALONE T. E. - J. Morphol., 1957, 100, 1-25.
- 278 - MALONE T. E. - Amer. J. Anat., 1960, 106, 41-53.
- 279 - MARC QUEN J., MONTAGNA W. - Anat. Rec., 1950, 106, 282.
- 280 - MARSH J. M., SAVARD R. - J. Biol. Chem. (Baltimore), 1964, 239, 1-17.
- 281 - MAUVAIS-JARVIS P. - Acta Endocr., 1966, 54, 37-52.
- 282 - MAUVAIS-JARVIS P. - La Presse Médicale, 1967, 75, 283-286.

- 283 - MAUVAIS-JARVIS P., DECOURT J. - Semaine des Hôpitaux, 1964, 40, 2659-2669.
- 284 - MAUVAIS-JARVIS P., DECOURT J. - Rev. Eur. Endocr., 1966, 3, 161-175.
- 285 - Mc ALPINE R.J. - Anat. Rec., 1955, 121, 407-408.
- 286 - Mc KAY D., PINKERTON J.H.M., HERTIG A.T., DANZIGER S. - Obstet. Gynec., 1961, 18, 13-39.
- 287 - Mc KERNS K.W. - Biochim. Biophys. Acta, 1965, 97, 542-550.
- 288 - Mc SHAN W.H., ERWAY W.F., MEYER R.K. - Arch. Biochem., 1948, 16, 379-387.
- 289 - MEARS E. - J. Endocr., 1962, 24, XXIV-XXVI.
- 290 - MEARS E. - Brit. Med. J., 1963, 1, 1318.
- 291 - MEGA M. - Attualita Ostet. Ginec., 1961, 7, 803-806.
- 292 - MEJBAUM W., in CHARGAFF S., DAVIDSON J.N. - The Nucleic Acids, Acad. Press, N.Y., 1955, 1, 301.
- 293 - MERKLIN R.J. - Anat. Rec., 1958, 130, 338.
- 294 - METAFORA S., D'ANNA T. - Atti. Acad. Nazl. Lincei Rend. Classe Sci. Fis. Mat. Nat., 1965, 38, 403-408.
- 295 - MEYER A.S. - Biochim. Biophys. Acta, 1955, 17, 441-442.
- 296 - MEYER A.S., Mc SHAN W.H., ERWAY W.F. - Endocrinology, 1945, 37, 431-436.
- 297 - MEYER A.S., SOUKUP S.K., Mc SHAN W.H., BIDDULPH L. - Endocrinology 1947, 41, 35-44.
- 298 - MILIO G. - Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 1960, 36, 62-63.
- 299 - MILIO G., CAPRIA V. - Biol. Lat., 1960, 13, 219-255.
- 300 - MONTALENTI G., DE NICOLA M. - Experientia, 1948, 4, 315-317.
- 301 - MOOG F. - Biol. Rev., 1946, 21, 41-59.
- 302 - MOOG F., WENGER E. - Amer. J. Anat., 1952, 90, 339-377.
- 303 - MORI K. - J. Biochem. (Japan), 1955, 42, 151-161.
- 304 - MORICONI A., LORVIK S. - Atti. Soc. Ital. Sci. Vet., 1963, 16, 228-230.
- 305 - MORTON G., BROWN C.B., HILLIARD J. - Biochim. Biophys. Acta, 1966, 114, 127-134.
- 306 - MOSCHINO A. - Atti. Soc. Ital. Ostet. Ginec., 1948, 39, 74-81.
- 307 - MOSCHINO A., PARISOTTO I. - Riv. Anat. Pat. e Oncol., 1952, 5, 855-861.
- 308 - MOSS S., WRENN T.R., SYKES J.F. - Anat. Rec., 1953, 115, 350.
- 309 - MOSS S., WRENN T.R., SYKES J.F. - Anat. Rec., 1954, 120, 409-433.
- 310 - MUKHERJEE A.K., BANERJEE S. - Acta Histochem., 1956, 2, 259-263.
- 311 - MULLER D. - Strahlentherapie Dtsch., 1961, suppl. n° 47, 133 P.
- 312 - MULNARD J. - C.R. Ass. Anat., 1956, 91, 1092-1100.

- 313 - NACHLAS M.N., CRAWFORD D.T., SELIGMAN A.M. - J. Histochem. Cytochem., 1957, 5, 264-278.
- 314 - NACHLAS M.N., SELIGMAN A.M. - Anat. Rec., 1949, 105, 677-695.
- 315 - NALBANDOV O., NALBANDOV A. - Endocrinology, 1949, 45, 195-203.
- 316 - NARBAITZ R., KOLODNY L. - Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat., 1964, 63, 612-617.
- 317 - NASS S. - Biol. Bull., 1962, 122, 232-251.
- 318 - NETTER A., PELISSIER C. - La Presse Médicale, 1966, 74, 1129-1130.
- 319 - NETTER A., SALOMON Y. - Revue du Praticien, 1966, 16, 1529-1538.
- 320 - NEUMANN K.G., OEHLERT U., HANSMANN H. - Z. Geburtsh. Gynäek., 1954, 141, 109-130.
- 321 - NEVINNY-STICKEL J. - Intern. J. Fertility, 1964, 9, 11-16.
- 322 - NEWMAN W., FEIGN I., WOLF A., KABAT E.A. - Amer. J. Pathol., 1950, 26, 257-306.
- 323 - NIELSON M.H., WARREN J.C. - Acta Endocr., 1965, 49, 58-64.
- 324 - NIELSON M.H., WARREN J.C. - Biochim. Biophys. Acta, 1965, 97, 532-541.
- 325 - NISHIMURA H. - Yamaguchi Igaku, 1961, 10, 309-323.
- 326 - NOGALES F., BOTELLA-LLUSIA L. - Acta Gynec., 1955, 6, 3-9.
- 327 - NOVAK E.R., GOLDBERG B., O'TOOLE R.V. - Amer. J. Obstet. Gynec., 1965, 93, 669-682.
- 328 - NOWKUNSKI J., JAJSZCZAK S. - Ginek. Pol., 1963, 34, 129-133.
- 329 - OBER G.K. - Klin. Wochschr., 1950, 28, 9-16.
- 330 - O'DONNELL V.J., Mc CAIG S.G. - Biochem. J., 1959, 71, 9P.
- 331 - OKI H. - Nippon Funin Gakkai Zasshi, 1965, 10, 167-176.
- 332 - ONNIS A., CAREDDU G. - Attualita Ostet. Ginec., 1962, 8, 397-417.
- 333 - OVERBEEK G.A., MADJEREK Z., DE VISSER J. - Acta Endocr., 1962, 41, 351-370.
- 334 - OVERBEEK G.A., DE VISSER J. - Acta Endocr., 1964, 90, 179-190.
- 335 - OZON P., BREUER H., LISBOA B.P. - Gen. Comp. Endocr., 1964, 4, 577-58.
- 336 - PADYKULA H.A. - Amer. J. Anat., 1954, 91, 107-132.
- 337 - PALMIERI A., MANGONI C., MANZI A., SCARANO E. - Arch. Ostet. Ginec. Ital., 1964, 69, 681-688.
- 338 - PANIGATI P.L. - Ann. Ostet. Ginec., 1958, 80, 370-378.
- 339 - PASSERI A., PIPINO G., VASSALO E. - Quaderni Clin. Ostet. Ginec., 1957, 12, 533-540.
- 340 - PEARSON B., DEFENDI V. - J. Histochem. Cytochem., 1957, 5, 72-83.
- 341 - PEARSON B., GROSE F. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1959, 100, 636-638.
- 342 - PESCIETTO G. - Minerva Ginec., 1951, 3, 611-616.
- 343 - PETRUCCI D. - Riv. Biol. Ital., 1959, 51, 229-252.

- 344 - PETRY G. - Fermentforsch., 1943, 17, 184-192.
- 345 - PIHAR O. - Chem. Listy (Prague), 1952, 46, 379-382.
- 346 - PINCUS G. - Biochem. Med., 1956, 18, 1-10.
- 347 - PINCUS G. - The control of fertility. Acad. Press, London, N.Y., 1965.
- 348 - PINCUS G., GARCIA C.R., PAVINIAQUA M., SHEPARD J. - Science, 1962, 138, 439.
- 349 - PINCUS G., KIRSCH R.E. - Amer. J. Physiol., 1936, 115, 219-228.
- 350 - PLOTZ E.J., WIENER M., STEIN A.A. - Amer. J. Obstet. Gynec., 1966, 94, 189-194.
- 351 - PONSE K. - Fonctions Endocriniennes de l'Ovaire. Gauthier-Villars, ed. Paris, 1966, 17-52.
- 352 - PRESL J., JIRASEK J., HORSKY J., HENZL M. - J. Endocr., 1965, 31, 293-294.
- 353 - PUCHOL J.P., CARBALLIDO A. - Med. Exp., 1959, 1, 305-310.
- 354 - PUCHOL J.P., CARBALLIDO A. - Med. Exp., 1959, 1, 348-351.
- 355 - PUCHOL J.P., CARBALLIDO A. - Rev. Diag. Biol. (Madrid), 1960, 9, 93-98.
- 356 - PUCHOL J.P., CARBALLIDO A. - Med. Exp., 1961, 4, 45-50.
- 357 - PUGH G., WALKER P.G. - J. Histochem. Cytochem., 1961, 9, 242-250.
- 358 - PULLE C. - Arch. Ostet. Ginec., 1960, 65, 387-424.
- 359 - PUPKIN M., BRATT H., WEISZ J., LLOYD C.W., BALOGH K. - Endocrinology, 1966, 79, 316-327.
- 360 - RABINOWITZ J.L., DOWBEN R.M. - Biochim. Biophys. Acta, 1955, 16, 96-98.
- 361 - RALL T.W., SUTHERLAND E.W. - J. Biol. Chem., 1958, 232, 1065.
- 362 - RAMAMOORTHY K. - Proc. Natl. Inst. Sci. India, 1959, 25, 87.
- 363 - RAVINA J.H. - La Presse Médicale, 1966, 74, 13-14.
- 364 - REICHERT L.E. - Endocrinology, 1962, 70, 697-700.
- 365 - REICHERT L.E. - Endocrinology, 1962, 71, 838-839.
- 366 - RENARD M.P., BASTIDE P., DASTUGUE G. - J. de Physiol., 1966, 58, 599-600.
- 367 - RENNELS E.G. - Amer. J. Anat., 1951, 88, 63-107.
- 368 - RICE B.F., SEGALOFF A. - Steroids, 1966, 7, 367-374.
- 369 - ROBBOY S.J., KAHN R.H. - Endocrinology, 1964, 75, 97-103.
- 370 - ROBERTS J.D., WARREN J.C. - Endocrinology, 1964, 74, 846-852.
- 371 - ROBEY M., SIMON P. - Entretiens de Bichat, 1964, 273-276.
- 372 - ROCHE A. - Arch. Biol., 1951, 62, 459-468.
- 373 - ROSSI F., PESCIOTTO G., REALE E. - Zeit. für Anat., 1951, 115, 500-528.
- 374 - ROYAL A.R. - Dissert. Abstr., 1965, 26, 3457.
- 375 - RUBIN B.L., DEANE H.W. - Endocrinology, 1965, 76, 382-389.

- 376 - RUBIN B.L., DEANE H.W., HAMILTON J.A. - Endocrinology, 1963, 73, 748-763.
- 377 - RUBIN B.L., DEANE H.W., HAMILTON J.A., DRIKS E.C. - Endocrinology, 1963, 72, 924-930.
- 378 - RUBIN B.L., DORFMAN R.I. - Endocrinology, 1957, 61, 601-610.
- 379 - RUBIN B.L., HAMILTON J.A., KARLSON T.J., TUFARO R.J. - Endocrinology, 1965, 77, 909-916.
- 380 - RUBIN B.L., HILLIARD J., HAYWARD J.N., DEANE H.W. - Steroids, 1965, 1, 121-130.
- 381 - RUBIN B.L., LEIPSNER G., DEANE H.W. - Endocrinology, 1961, 69, 619-625.
- 382 - RUDEL H.W., KINCL F.A. - Acta Endocr., 1966, 51, 105.
- 383 - RUTENBURG A., WOLMAN M., SELIGMAN A.M. - J. Histochem. Cytochem., 1953, 1, 66-81.
- 384 - RYAN K.J. - Biochim. Biophys. Acta, 1958, 27, 658-659.
- 385 - RYAN K.J. - J. Biol. Chem., 1959, 234, 268-272.
- 386 - RYAN K.J. - Recent Progress in Hormone Res., 1965, 21, 367-409.
- 387 - RYAN K.J., PETRO Z. - J. Clin. Endocr. Metab., 1966, 26, 44-52.
- 388 - RYAN K.J., SHORT R.V. - Endocrinology, 1965, 76, 108-114.
- 389 - SAMUELS L.T., HELMREICH M.L., LASATER M.B., REICH H. - Science, 1951, 113, 490-491.
- 390 - SAMUELS L.T. in GREENBERG D.M. - Metabolic Pathway, Acad. Press., N. Y., and London, 1960, 431.
- 391 - SANDBERG E.C., JENKINS R.C. - Biochim. Biophys. Acta, 1966, 113, 190-193.
- 392 - SANI G., HANAU R. - Monit. Zool. Ital., 1951, 60, 309-311.
- 393 - SANI G., HANAU R. - Arch. Ital. Anat. Embriol., 1952, 57, 211-214.
- 394 - SANZ SANCHEZ F., CASTELLA BERTRAN E., TARAZONA-VILAS J.M. - An. Fac. Vet. (Madrid), 1950, 2, 97-105.
- 395 - SAUNDERS J.F. - Recent Progress in Hormone Res., 1964, 20, 395.
- 396 - SAVARD K., MARSH M., HAWELL E. - Endocrinology, 1963, 73, 554-563.
- 397 - SAVARD K., MARSH J.M., RICE B.F. - Recent Progress in Hormone Res., 1965, 21, 285-385.
- 398 - SAWASAKI C., TAKAGI S., MAEDA I., NAKAGUKA M. - Nippon Funin Gakkai Zasshi, 1965, 10, 186-195.
- 399 - SAWYER C.H., EVERETT J.W. - Amer. J. Physiol., 1947, 148, 675-683.
- 400 - SCHNEIDER W.C. - J. Biol. Chem., 1945, 165, 585-593.
- 401 - SCHOCHET S.S. - Surg. Gynec. Obstet., 1920, 31, 148-149.
- 402 - SCULLY R.E., COHEN R.B. - Obstet. Gynec., 1964, 24, 667-681.
- 403 - SELIGMAN A.M., NACHLAS M.N. - J. Clin. Invest., 1950, 29, 31-36.

- 404 - SELIGMAN A.M., TSOU K.C., RUTENBURG S.H., COHEN R.B. - J. Histochem. Cytochem., 1954, 2, 209-216.
- 405 - SHORT R.V. - J. Endocr., 1962, 24, 59-63.
- 406 - SIMPSON M.E., VANWAGENEN G. - Anat. Rec., 1953, 115, 370-373.
- 407 - SMITH O.W., RYAN K.J. - Endocrinology, 1961, 69, 869-872.
- 408 - SPIEGEL E., SPIEGEL M. - Exp. Cell. Res., 1964, 36, 427-429.
- 409 - STAFFORD R.O., Mc SHAN W.H., MEYER R.K. - Endocrinology, 1947, 41, 45-54.
- 410 - STANSFIELD D.A., ROBINSON J.N. - Endocrinology, 1965, 76, 390-395.
- 411 - SUCHOWSKY G.K. - J. Endocr., 1962, 24, XX.
- 412 - SWEAT M.L., BERLINER D.L., BRYSON M.L., NABORS C., HASKELL J., HOLMSTROM E.C. - Biochim. Biophys. Acta, 1960, 40, 277-289.
- 413 - SWEAT M.L., BERLINER D.L., BRYSON M.L. - Biochim. Biophys. Acta, 1960, 40, 289-296.
- 414 - SYKES J.F., MOSS S., WRENN T.R. - Reproduction and Infertility Symposium Mich. State Univ., 1955, 45-53 (Publ. 1956).
- 415 - SZLIJARTO A., PASQUALIN U. - Fracastoro, 1961, 54, 426-433.
- 416 - SZONTAGH F.E. - Abdhandl. Deut. Akad. Wiss. Berlin Kl. Med., 1965, 1, 206-208.
- 417 - TAKEUKI T. - J. Histochem. Cytochem., 1958, 6, 208-216.
- 418 - TAKEUKI S., HIGASHI K., WATANUKI S. - J. Histochem. Cytochem., 1955, 3, 485-491.
- 419 - TAKEUKI S., NOGAMI S. - Acta Pathol. (Japan), 1954, 4, 277-283.
- 420 - TAKI I., HAMANAKA N., MASAHIKO M. - Amer. J. Obstet. Gynec., 1966, 96, 388-399.
- 421 - TAKI I., IJIMA T., UETSUKI M., HAMANAKA N., MORISHITA M., MORI M. - Amer. J. Obstet. Gynec., 1967, 98, 107-115.
- 422 - TAKO K. - Teishin Igaku, 1960, 12, 716-717.
- 423 - TALALAY P., FISHMAN W.H., HUGGINS C. - J. Biol. Chem., 1946, 166, 757-772.
- 424 - TALBERT G.B., STAFFORD R., MEYER R.K., Mc SHAN W.H. - Anat. Rec., 1948, 100, 718-720.
- 425 - TAMOAKI B.I., PINCUS G. - Endocrinology, 1961, 69, 527-533.
- 426 - TAUSK M. - Rev. Eur. Endocr., 1966, 3, 141-159.
- 427 - TAYLOR F.B. - Acta Endocr., 1961, 36, 361-374.
- 428 - TODD P.E., TRIKOJUS V.M. - Biochim. Biophys. Acta, 1960, 45, 234-242.
- 429 - TOTH F., SZOENYI I. - Z. Geburt. Gynäek., 1966, 165, 91-105.
- 430 - TSAO M.U. - Arch. Biochem. Biophys., 1960, 90, 234-238.
- 431 - TURCHETTI G., PARDELLI G. - Folia Endocr., 1957, 10, 649-655.

- 432 - TUREVS'KII A.A., MOROZ I.G. - Visn. Sil's'kogo Spodar. Nanki, 1966, 9, 103-105.
- 433 - TUROLLA E. - Ann. Ostet. Gynec., 1960, 82, 751-762.
- 434 - TUROLLA E. - Folia Endocr., 1963, 16, 474-483.
- 435 - TUROLLA E., MAGRINI U., GAETANI M. - Experientia, 1966, 21, 675-676.
- 436 - ULHARICK S., KOVACS L., VISKI S., SZONTAGH F.E. - Endokrinologie, 1964, 47, 82-90.
- 437 - VANHA-PERTULLA T.P.J., HOPUS V.K. - Histochemie, 1966, 6, 34-45.
- 438 - VENUGOPALAN V.K. - Exp. Cell. Res., 1961, 24, 565-569.
- 439 - VERNE J. - Ann. Endocr., 1952, 13, 659-663.
- 440 - VERNE J., HEBERT S. - C.R. Soc. Biol., 1952, 146, 390-391.
- 441 - VERNE J., WEGMANN R. - Path. Biol., 1959, 7, 1711-1718.
- 442 - WAKELING A. - J. Reprod. Fertil., 1965, 10, 1-7.
- 443 - WALLACE R.A. - Biochim. Biophys. Acta, 1964, 86, 286-294.
- 444 - WALLACE E., SILBERMAN N. - J. Biol. Chem., 1964, 239, 2809.
- 445 - WARREN J.C., HILTON A., SALHANICK M.D. - J. Clin. Endocr., 1961, 21, 1218-1230.
- 446 - WARREN J.C., SALHANICK M.D. - J. Clin. Endocr., 1961, 21, 1376-1383.
- 447 - WATNICK A.S., GIBSON J., VINEGRA M., TOLKSDORF S. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1964, 116, 343-347.
- 448 - WATTEMBERG L.N. - J. Histochem. Cytochem., 1958, 6, 225-232.
- 449 - WEGMANN R., LAGERON A. - Ann. Histochem., 1963, 8, 81-91.
- 450 - WERBIN H., PLOTZ J., LE ROY G.V., DAVIS E.M. - J. Amer. Chem. Soc., 1957, 79, 1012-1013.
- 451 - WERTHESSEN N.T., SCHWENK E., BAKER C.F. - Science, 1953, 117, 380-381.
- 452 - WHITE R.F., HERTIG A.T., ROCK J., ADAMS C. - Contr. Embryol. Caneg. Instn., 1951, 34, 55-74.
- 453 - WICKLUND E. - Nature (London), 1948, 161, 556.
- 454 - WIEST W.G. - J. Biol. Chem., 1959, 234, 3115-3121.
- 455 - WIEST W.G. - Endocrinology, 1963, 73, 310-316.
- 456 - WIEST W.G., KIDWELL W.R., KIRSCHBAUM T.H. - Steroids, 1963, 2, 617-629.
- 457 - WIEST W.G., WILCOX R.B. - J. Biol. Chem., 1961, 236, 2425-2428.
- 458 - WIEST W.G., WILCOX R.B., KIRSCHBAUM T.H. - Endocrinology, 1963, 73, 588-595.
- 459 - WILCOX R.B. - Dissert. Abstr. U.S.A., 1963, 23, 3624-3625.
- 460 - WILCOX R.B., CLOUD S. - J. Reprod. Fertil., 1965, 10, 321-328.

- 461 - WILCOX R.B., WIEST W.G. - Steroids, 1966, 7, 395-413.
 - 462 - WILLIAMS E., JOHNSON P.L., FIELD J.B. - Biochem. Biophys. Res. Communs, 1961, 6, 129-133.
 - 463 - WINTER M.S., SIEGMANN C.M., SZPILFOGEL S.A. - Chem. and Industr., 1959, 905.
 - 464 - WIMSATT W.A. - Anat. Rec., 1949, 103, 564-565.
 - 465 - WOTIZ H.H., LEMON H.M. - Biochemistry, Pergamon Press, London, 1959.
 - 466 - YAO T. - Quart. Micr. Sci., 1950, 91, 79-88.
 - 467 - YAO T. - Quart. Micr. Sci., 1950, 91, 89-106.
 - 468 - ZAMBOTTI V., PASETTO N. - Atti. Soc. Med. Chir. (Padova), 1949, 27, 68-70.
 - 469 - ZARROW M.X., GALLO R.V. - Endocrinology, 1966, 79, 445-447.
 - 470 - ZAWISTOWSKA H. - Folia Morphol., 1956, 7, 175-183.
 - 471 - ZERBIAN K. - Acta Histochem., 1966, 23, 303-321.
 - 472 - ZUCKERMAN S. - The Ovary, Acad. Press, N.Y., London, 1962, vol. I, 619 p. vol. II, 600 p.
 - 473 - ZUSMAN F.Y. - Trudy Sverdlovskogo Sel'skokhoz Inst., 1961, 8, 137-138.
-

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
--------------------	---

Première partie

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I :

Exposé analytique :	
- Oxydoréductases	7
- Transférases	15
- Hydrolases	16
- Lyases	26
- Isomérases	27
- Ligases	27

CHAPITRE II :

Enzymes et métabolismes :	
- Métabolisme des hormones ovariennes	29
- Métabolisme glucidique	34
- Métabolisme protidique	34
- Métabolisme lipidique	35

CHAPITRE III :

Variations physiologiques :	
- Variations enzymatiques et cycle ovarien	37
- Variations enzymatiques et ménopause	40
- Variations enzymatiques pendant la gestation et la lactation	40

CHAPITRE IV :

Variations pathologiques et expérimentales :	
- Avitaminoses	43

- Tumeurs	43
- Action des Rayons X	44
- Hypophysectomie	44
- Action des gonadotrophines	45
- Action des œstrogènes	47
- Action des androgènes	48
- Action de la progestérone et de ses dérivés	48
- Action de drogues diverses	49

Deuxième Partie

RECHERCHES EXPERIMENTALES

CHAPITRE I :

Généralités :	
- Substances pharmacologiques expérimentées	53
- Animaux et traitements	56
- Préparations enzymatiques	58
- Expression des résultats	58
- Effets secondaires	58
- Dosage de l'azote protéique	60
- Dosages de l'A.D.N. et de l'A.R.N.	62

CHAPITRE II :

Activité lactate déhydrogénasique	65
---	----

CHAPITRE III :

Activité glucose-6-phosphate déhydrogénasique	69
---	----

CHAPITRE IV :

Activité 3- β -hydroxystéroïde NAD oxydoréductasique ..	73
---	----

CHAPITRE V :

Activités lipasiques et aliestérasiques	79
---	----

CHAPITRE VI :

Activités phosphatasiques	85
---------------------------------	----

CHAPITRE VII :

Activité β -glucuronidasique	91
--	----

CHAPITRE VIII :

Activité leucine aminopeptidasique	95
--	----

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES	99
---------------------------------------	----

BIBLIOGRAPHIE	103
---------------------	-----

